



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

Caracterização do Parasitismo de Ungulados Silvestres e
aspectos da sua Epidemiologia na Tapada Nacional de Mafra,
Concelho de Mafra, Portugal

DIOGO JOÃO FRANCO DOS SANTOS

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria Isabel Neto da Cunha Fonseca
Doutor José Farraia e Silva Meireles
Dr. Jorge Francisco Soares

ORIENTADOR

Dr. Jorge Francisco Soares

CO-ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2013
LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

Caracterização do Parasitismo de Ungulados Silvestres e
aspectos da sua Epidemiologia na Tapada Nacional de Mafra,
Concelho de Mafra, Portugal

DIOGO JOÃO FRANCO DOS SANTOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria Isabel Neto da Cunha Fonseca

Doutor José Farraia e Silva Meireles

Dr. Jorge Francisco Soares

ORIENTADOR

Dr. Jorge Francisco Soares

CO-ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2013
LISBOA

“Procurai deixar o mundo um pouco melhor do que o encontrastes e, quando vos chegar a vez de morrer, podeis morrer felizes sentindo que ao menos não desperdiçastes o tempo e fizestes todo o possível por praticar o bem.”

Baden Powell *in* Escutismo para Rapazes

Aos meus avós e aos meus pais, por acreditarem no meu sonho.

Agradecimentos

Ao Dr. Jorge Soares, por ser tão entusiasta do meu trabalho, pelo gosto com que despendeu tempo para me ensinar e pelo seu constante optimismo.

Ao Professor Doutor Luís Madeira de Carvalho por ter sido o meu impulsionador deste projecto, por acreditar a fundo no meu trabalho, por exigir tanto de mim e pelo seu sentido de humor.

Agradecemos à anterior e actual direcção da Tapada Nacional de Mafra todo o apoio que nos proporcionaram para a realização do estágio e dos nossos trabalhos de campo, com especial destaque para o Sr. Engenheiro Ricardo Paiva, o qual acompanhou e estimulou toda parte prática de campo explanada nesta dissertação.

A todos os Professores do Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias, por me terem concedido os meios físicos e os materiais que precisava sem os quais este estudo não teria sido possível.

À Dra. Lídia Gomes por me ter conduzido pelo estranho mundo laboratorial de Parasitologia, por ter ralhado quando precisava e pelo entusiasmo que partilhou sempre que via um fígado com *Fasciola hepatica*.

Ao Ivo Natalio e ao Vítor Claro, por terem sido os meus companheiros de estágio, por me terem mostrado todos os segredos bem guardados da TNM, por todo o apoio que me deram em momentos menos bons e pelas boleias quando as pernas não davam mais. À Dra. Ana Sá e ao Engenheiro Pedro Carrilho pela disponibilidade constante para ajudarem no que fosse preciso.

À Cátia Marques por me ter conduzido com tanta paixão pelo mundo dos ixodídeos e me ter auxiliado nesse campo.

À Catarina Gomes, ao Dr. Jaime Sanchís e à Dra. Cristiana Cazapal pela partilha do método de McMaster modificado que tanto melhorou o meu trabalho e a minha perspectiva.

Ao David Ramilo, Marcos Santos, Cátia Marques, Patrícia Caeiros e António Crespo por terem sido a melhor companhia possível no laboratório e claro pelos momentos de insanidade.

Aos meus pais e irmã por terem acreditado no meu sonho e pela eterna paciência.

À Isabel por ter estado ao meu lado todo este tempo e por ser o meu pilar essencial.

Ao grupo das Conchinhas por serem os meus amigos para a vida e à minha amada turma Biê porque foi com eles que vivi as loucuras da vida académica.

Aos escuteiros (especialmente o meu 647) que me ensinaram a deixar o mundo um pouco melhor e por me ajudarem a construir a dedicação ao próximo.

Aos meus amigos de sempre e para sempre.

À Lolita, Pulga, Íris, Mico, Tica e Camila por mostrarem a razão de Veterinária ser o meu sonho de infância e pela fidelidade incondicional em todos os momentos.

A Ele, por ser o outro par de pegadas que avança comigo pela vida.

Resumo

O estudo e o conhecimento das doenças que afectam as espécies silvestres cada vez ganham mais relevância, não só pela manutenção de um bom estado sanitário destas populações mas também pelo potencial zoonótico.

O estudo foi composto pelo acompanhamento do acto venatório de gamos ($n = 17$) e de javalis ($n = 9$), bem como pela colheita mensal de fezes de populações de veado ($n = 1$), de gamo ($n = 7$) e de javali ($n = 3$) durante o período de um ano. Nos animais caçados foi efectuada a pesquisa de ectoparasitas e endoparasitas gastrointestinais, pulmonares e hepáticos, bem como a coprologia dos mesmos. Nas populações foram efectuados os testes de flutuação de Willis, McMaster e coprocultura para nemátodes gastrointestinais, sedimentação simples e McMaster modificado para *Fasciola hepatica*, esfregaço fecal para *Cryptosporidium* nos cervídeos e Baerman para determinação de nemátodes pulmonares.

Nos gamos caçados foram detectados as espécies *Oesophagostomum venulosum* (12,5%) e *Oe. radiatum* (6,25%), *Spiculoteragia asymmetrica* (11,76%), *S. mathevossiani* (5,88%), *Spiculopteragia* spp. (5,88%), *Fasciola hepatica* (76,47%) e *Ixodes ricinus* (88,24%). Nos javalis caçados foram detectadas as espécies *Ascarops strongylina* (22,22%), *Oesophagostomum* spp. (12,5%), *Metastrongylus* spp. (11,11%), *M. pudendotectus* (11,11%), *M. salmi* (44,44%), *M. elongatus* (11,11%), *Fasciola hepatica* (55,56%), *Hyalomma lusitanicum* (77,78%) e *Rhipicephalus sanguineus* (11,11%). No veado foram obtidos dois espécimes de *Trichuris* spp.

Nas análises coprológicas verificou-se a presença de nemátodes gastrointestinais em todas as populações, não tendo existido evidência de uma dinâmica anual de excreção tal como existe nos animais domésticos. Nos gamos, o teste de Baerman detectou L1 de *Dictyocaulus*, *Protostrongylus* e *Muellerius* em todas as populações excepto G3 onde só foram identificados os dois últimos géneros referidos. O último género referido é a primeira vez que é assinalado em gamos na Europa. Nos javalis verificou-se a presença de ovos com L1 de *Metastrongylus* nas três populações estudadas.

A pesquisa de *Cryptosporidium* foi positiva em apenas duas amostras das populações (2,5% do total das amostras), sendo uma de veado e outra de gamo revelando um decréscimo muito acentuado em relação ao último estudo realizado na Tapada Nacional de Mafra (TNM) por Bruno de Sousa em 2001.

Fasciola hepatica continua a ser a maior preocupação sanitária nas populações de ungulados da TNM, estando presente em todas as populações, tendo no entanto maior relevância nos gamos. A combinação da técnica de sedimentação simples com o McMaster modificado, permitiu não só um melhor diagnóstico de *Fasciola hepatica* como ainda a quantificação da eliminação de ovos.

Palavras chave: *Fasciola hepatica*, gamo, javali, nemátodes, coprologia, veado

Abstract

The study and knowledge of diseases affecting wild species has become increasingly more important, not only for maintaining a good health status of these populations but also for their zoonotic potential.

The research was composed by monitoring the deer (n = 17) and wild boars (n = 9) hunting and faeces sampling collecting of red deer populations (n = 1), fallow deer (n = 7) and wild boar (n = 3) during the period of one year. In the hunted animals was performed a collection of ectoparasites and gastrointestinal, pulmonary and liver endoparasites, as well as coprology. In populations Willis flotation, McMaster and faecal cultures for gastrointestinal nematodes, simple sedimentation and modified McMaster to *Fasciola hepatica*, fecal smears for *Cryptosporidium* in cervids and Baerman for determination of lung nematodes were conducted.

The species detected in hunted deer were *Oesophagostomum venulosum* (12,5%) and *Oe. radiatum* (6,25%), *Spiculoteragia asymmetrica* (11,76%), *S. mathevossiani* (5,88%), *Spiculopteragia* spp. (5,88%), *Fasciola hepatica* (76,47%) and *Ixodes ricinus* (88,24%). The species detected in hunted wild boars were *Ascarops strongylina* (22,22%), *Oesophagostomum* spp. (12,5%), *Metastrongylus* spp. (11,11%), *M. pudendotectus* (11,11%), *M. salmi* (44,44%), *M. elongatus* (11,11%), *Fasciola hepatica* (55,56%), *Hyalomma lusitanicum* (77,78%) and *Rhipicephalus sanguineus* (11,11%). In the red deer were collected two specimens of *Trichuris* spp.

In faecal analysis the presence of gastrointestinal nematode in all populations was confirmed; however there was not an evidence of an annual dynamic for egg shedding excretion as found in domestic animals. In fallow deer, the Baerman test detected L1 of *Dictyocaulus*, *Protostrongylus* and *Muellerius* in all populations except G3 where were identified only the last two mentioned genus. The last genus was reported for the first time in fallow deer in Europe. In wild boars eggs with L1 larvae of *Metastrongylus* were observed.

Cryptosporidium was positive in only two population samples (2,5% of total samples) being one of red deer and the other of fallow deer revealing a very sharp decrease since the previous study conducted in the Tapada Nacional de Mafra (TNM) by Bruno de Sousa in 2001.

Fasciola hepatica remains the biggest health concern in the TNM ungulates, because it is present in all populations, however having greater relevance in fallow deer. The combination of simple sedimentation technique with the modified McMaster helped in better diagnosis of *Fasciola hepatica*, and allowed a better quantification of the egg shedding.

Keywords: *Fasciola hepatica*, fallow deer, wild boar, nematodes, coprology, red deer

Índice Geral

Índice de Figuras	XII
Índice de Tabelas	XIV
Índice de Gráficos	XV
Índice de Abreviatura	XVI
1. Introdução.....	1
1.1 Descrição das actividades realizadas durante o estágio curricular.....	1
2. Revisão Bibliográfica	3
2.1 Local de estudo	3
2.1.1 Tapada Nacional de Mafra.....	3
2.1.2 Flora	3
2.1.3 Fauna	4
2.1.3.1 Gamo (<i>Cervus dama dama</i>).....	4
2.1.3.1.1 Taxonomia.....	4
2.1.3.1.2 Características Morfológicas.....	4
2.1.3.1.3 Organização Social e Ciclo Anual.....	5
2.1.3.1.4 Habitat e Alimentação.....	6
2.1.3.2 Veado (<i>Cervus elaphus</i>).....	6
2.1.3.2.1 Taxonomia.....	6
2.1.3.2.2 Características Morfológicas.....	7
2.1.3.2.3 Organização Social e Ciclo Anual.....	7
2.1.3.2.4 Habitat e Alimentação.....	8
2.1.3.3 Javali (<i>Sus scrofa</i>).....	9
2.1.3.3.1 Taxonomia.....	9
2.1.3.3.2 Características Morfológicas.....	9
2.1.3.3.3 Organização Social e Ciclo Anual.....	9
2.1.3.3.4 Habitat e Alimentação.....	10
2.2 Parasitas.....	11
2.2.1 Parasitas do Gamo	11
2.2.2 Parasitas do Gamos em Portugal	12
2.2.3 Parasitas do Veado	13
2.2.4 Parasitas do Veado em Portugal	16
2.2.5 Parasitas do Javali.....	16
2.2.6 Parasitas do Javali em Portugal.....	19
2.3 Objectivos.....	21
3. Material e Métodos	22
3.1 Populações.....	22

3.2	Colheita de Fezes.....	25
3.3	Actividade cinegética	26
3.4	Necrópsia	26
3.5	Trabalho Laboratorial.....	27
3.5.1	Processamento de órgãos.....	28
3.5.2	Pesquisa de <i>Trichinella</i> spp.....	29
3.5.3	Processamento de amostras fecais	29
3.5.3.1	Técnica de McMaster	29
3.5.3.2	Método de Willis.....	30
3.5.3.3	Sedimentação Simples.....	30
3.5.3.4	McMaster Modificado	31
3.5.3.5	Coprocultura em Copo	31
3.5.3.6	Baerman	32
3.5.3.7	Pesquisa de <i>Cryptosporidium</i>	33
3.5.4	Pesquisa de Ixodídeos	34
3.5.5	Análise Estatística	34
4.	Resultados.....	35
4.1	Parasitas observados nas diferentes populações animais estudadas.....	35
4.1.1	Parasitas Gastrointestinais	35
4.1.2	Género <i>Cryptosporidium</i>	37
4.1.3	Parasitas Hepáticos.....	38
4.1.4	Parasitas Pulmonares.....	42
4.2	Parasitas observados em animais capturados através de actividade cinegética....	44
4.2.1	Parasitas Gastrointestinais	44
4.2.1.1	Gamo	44
4.2.1.2	Javali.....	47
4.2.1.3	Veado	47
4.2.2	Parasitas Pulmonares.....	48
4.2.2.1	Gamo	48
4.2.2.2	Javali.....	48
4.2.2.3	Veado	49
4.2.3	Parasitas Hepáticos.....	49
4.2.3.1	Gamo	49
4.2.3.2	Javali.....	50
4.2.3.3	Veado	50
4.2.4	Coprologia dos animais caçados	51
4.2.4.1	Gamo	51

4.2.4.2	Javali.....	51
4.2.4.3	Veado	52
4.2.5	Ectoparasitas.....	52
4.2.5.1	Gamo.....	52
4.2.5.2	Javali.....	53
5.	Discussão.....	56
5.1	Parasitas observados nas diferentes populações animais estudadas.....	56
5.1.1	Parasitas Gastrointestinais	56
5.1.2	Género <i>Cryptosporidium</i>	60
5.1.3	Parasitas Hepáticos.....	61
5.1.4	Parasitas Pulmonares.....	63
5.2	Parasitas observados em animais capturados através de actividade cinegética....	65
5.2.1	Parasitas gastrointestinais.....	65
5.2.2	Parasitas pulmonares	67
5.2.3	Parasitas Hepáticos.....	69
5.2.4	Coprologia dos animais caçados	70
5.2.5	Ectoparasitas.....	73
6.	Conclusão.....	75
7.	Perspectivas Futuras	77
8.	Bibliografia.....	78

Índice de Figuras

Figura 1 – Extracto arbóreo e arbustivo de parte da TNM (original).....	4
Figura 2 - Gamo macho adulto (Pelagem de Outono/ Inverno) na TNM (original).....	5
Figura 3 – Veado macho na TNM (original)	7
Figura 4 - Javali fêmea adulto na TNM (original).....	9
Figura 5 - Mapa da Tapada Nacional de Mafra com localização das populações estudadas (adaptado de TNM).....	24
Figura 6 - Fezes de gamo (à esquerda); Fezes de javali (à direita) (originais).	25
Figura 7 - Material utilizado na necrópsia dos animais abatidos em acto de caça (original) .	27
Figura 8 - Espécimes de <i>Fasciola hepatica</i> retirados de fígado de gamo para uma placa de Petri (original)	28
Figura 9 - Processamento péptico-ácido do músculo (original)	29
Figura 10 – Dois ovos de <i>Fasciola hepatica</i> usando a técnica de McMaster modificada (100x) (original).....	31
Figura 11 - Oocistos não esporulados junto a ovo tipo estrongilídeo (400x) (à esquerda); Ovo de <i>Trichuris</i> sp. observado em flutuação de fezes de javali (400x) (à direita) (originais)	35
Figura 12 – Ovo de <i>Fasciola hepatica</i> usando a técnica de sedimentação simples (100x) (original).....	38
Figura 13 - L1 de <i>Muellerius</i> sp. (200x) (à esquerda); L1 de <i>Protostrongylus</i> sp. (200x) (ao centro); L1 de <i>Dictyocaulus</i> sp. (100x) (à direita) (originais).....	43
Figura 14 - Ovo de <i>Trichuris</i> sp. em fezes de veado (100x) (à esquerda); ovo de <i>Capillaria</i> sp. em fezes de veado (100x) (à direita) (original)	43
Figura 15 - ovo de <i>Metastrongylus</i> sp. (100x) (à esquerda); ovo de <i>Physocephalus</i> sp. (100x) (ao centro); ovo de <i>Trichuris</i> sp. (100x) (à direita) (originais)	44
Figura 16 –Extremidade posterior de macho de <i>Spiculopteragia asymmetrica</i> (200x) (à esquerda); Extremidade posterior de macho de <i>Spiculopteragia mathevossiani</i> (200x) (à direita) (originais)	46
Figura 17 –Extremidade anterior de <i>Oesophagostomum venulosum</i> (200x) (à esquerda); Extremidade anterior de <i>Oesophagostomum radiatum</i> (200x) (à direita) (originais)	46
Figura 18 - Extremidade anterior de macho de <i>Ascarops strongylina</i> (400x) (à esquerda); Extremidade posterior de macho de <i>Ascarops strongylina</i> (200x) (à direita) (originais)	47
Figura 19 – Zona espessa do corpo de uma fêmea de <i>Trichuris</i> sp. (200x) (original)	47
Figura 20 –Extremidade posterior de fêmea de <i>Metastrongylus elongatus</i> (100x) (à esquerda); Extremidade posterior de fêmea de <i>Metastrongylus pudendotectus</i> (200x) (ao centro); Extremidade posterior de fêmea de <i>Metastongylus salmi</i> (200x) (à direita) (originais)	49
Figura 21 – Fêmea (à esquerda) e macho (à direita) de <i>Ixodes ricinus</i> (15,5x) (original)	53

Figura 22 – Face ventral de fêmea de <i>Ixodes ricinus</i> (à esquerda) (15x); Face ventral de macho de <i>Ixodes ricinus</i> (à direita) (27,5x) (originais)	53
Figura 23 – Face dorsal de fêmea (à esquerda) e de macho (à direita) de <i>Hyalomma lusitanicum</i> (16x) (original)	54
Figura 24 – Face ventral de fêmea (à esquerda) e de macho (à direita) de <i>Hyalomma lusitanicum</i> (16x) (original)	54
Figura 25 – Face dorsal de fêmea (à esquerda) e de macho (à direita) de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (20x) (original)	54
Figura 26 – Face ventral de fêmea (à esquerda) e de macho (à direita) de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (20x) (original)	55

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Censos da População de veado e de gamo na TNM em 2011	22
Tabela 2 – Parasitas gastrointestinais no gamo	45
Tabela 3 – Relação entre o sexo dos gamos caçados e o grau de parasitismo observado no tracto gastrointestinal.....	45
Tabela 4 – Relação entre a idade dos gamos caçados e o grau de parasitismo observado no tracto gastrointestinal.....	45
Tabela 5 – Distribuição da infestação por ixodídeos por escalão etário dos gamos.....	53

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Distribuição etária dos gamos abatidos na época de caça 2011/2012.....	26
Gráfico 2 – Percentagem de amostras positivas através da técnica de Willis nas populações estudadas.	35
Gráfico 3 – Média de OPG (técnica de McMaster) das populações estudadas de cervídeos	36
Gráfico 4 – Proporção de L3 encontradas na população J1	37
Gráfico 5 – Comparação entre a técnica de Sedimentação simples e McMaster modificado na prevalência de <i>F. hepatica</i> nas diversas populações de ungulados da TNM.....	38
Gráfico 6 – Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população V1 durante o período do estudo	39
Gráfico 7 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população G2 durante o período do estudo	39
Gráfico 8 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população G3 durante o período do estudo	40
Gráfico 9 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população G4 durante o período do estudo	40
Gráfico 10 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população G5 durante o período do estudo	40
Gráfico 11 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população G6 durante o período do estudo	41
Gráfico 12 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população G8 durante o período do estudo	41
Gráfico 13 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população G9 durante o período do estudo	41
Gráfico 14 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população J1 durante o período do estudo	42
Gráfico 15 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população J2 durante o período do estudo	42
Gráfico 16 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população J3 durante o período do estudo	42
Gráfico 17 – Número de exemplares de <i>Metastrongylus</i> spp. recuperados em cada javali ..	48
Gráfico 18 – Relação entre a presença de parasitas de <i>Fasciola hepatica</i> e a existência de lesões fibróticas (legenda: Par – Parasitas; Les – Lesões)	50
Gráfico 19 – Proporção de L3 observada nos javalis abatidos em acto venatório.....	52

Índice de Abreviatura

Abreviatura	Significado
µm	Micrómetros
cm	Centímetros
HD	Hospedeiro definitivo
HI	Hospedeiro intermediário
HP	Hospedeiro paraténico
L1	Larva em estadio 1
L3	Larva em estadio 3 (infectante)
L3/g	Número de L3 por grama de fezes
L4	Larva em estadio 4
L5	Larva em estadio 5
ml	Mililitros
mm	Milímetros
Oe.	<i>Oesophagostomum</i>
OPG	Ovos por grama de fezes
RTM	Real Tapada de Maфра
S.	<i>Spiculoteragia</i>
T.	<i>Trichinella</i>
TNM	Tapada Nacional de Maфра

1. Introdução

Em 1991, Hutchins, Foose & Seal, referiam que nas duas próximas décadas, seria provável a extinção de 1 a 5 milhões de espécies de plantas e animais, existindo uma especial vulnerabilidade dos grandes vertebrados. Esta preocupação, tem aumentado o interesse de biólogos, ecologistas e veterinários na área das espécies silvestres, levando a uma maior produção de estudos que consigam auxiliar no esforço de conservação das espécies que sofrem ameaça de extinção.

No entanto, os esforços são cada vez mais direccionados para doenças infecciosas com potencial zoonótico. Este esforço tem levado a uma transposição para segundo plano da biodiversidade e ecologia dos parasitas que afectam as espécies silvestres, uma vez que os animais domésticos e a saúde humana continuam a ser uma prioridade (Thompson, Lymbery & Smith, 2010).

Desta forma, Deem, Karesh & Weisman (2001) afirmam que tanto as doenças infecciosas como as não infecciosas devem ser vistas como o desafio na conservação das espécies animais.

A presente tese serve o objectivo de contribuir para um maior conhecimento da dinâmica parasitária em espécies de ungulado silvestres autóctones, bem como as suas consequências. Desta forma, pretende-se que o conhecimento adquirido no estudo possa auxiliar no esforço de conservação que tem sido encetado em Portugal para melhorar o estado e controlo sanitário destas espécies e poder assim garantir que as futuras gerações poderão disfrutar destas espécies e do equilíbrio que elas representam para o funcionamento dos ecossistemas nacionais.

1.1 Descrição das actividades realizadas durante o estágio curricular

No âmbito do Mestrado integrado em Medicina Veterinária, foi realizado um estágio na Tapada Nacional de Mafra num período de 12 meses, nomeadamente, entre Outubro de 2011 e Outubro de 2012. Além da vertente do trabalho de campo, o trabalho laboratorial foi efectuado no Laboratório de Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária, à época Universidade Técnica de Lisboa e agora Universidade de Lisboa.

O trabalho de campo dividiu-se em duas vertentes. A primeira foi o acompanhamento das populações escolhidas de ungulados para o estudo, bem como a colheita mensal de fezes de cada uma destas populações, para realização das técnicas descritas no presente trabalho. A segunda vertente foi o acompanhamento do acto de caça, recolha do animal e consequente necrópsia para recolha dos órgãos necessários para o estudo, bem como garantir que eram respeitadas as boas práticas de higiene na preparação da carcaça.

O trabalho laboratorial consistiu no processamento das amostras de fezes recolhidas das populações e dos animais abatidos no acto cinegético, bem como o processamento dos órgãos recolhidos na necrópsia para isolamento dos parasitas assinalados.

Sempre que o orientador se encontrava na Tapada Nacional de Mafra, foi efectuado o acompanhamento veterinário das populações. Assim, tivemos a possibilidade de aprender técnicas de imobilização de ungulados, bem como princípios de farmacologia para estes animais. Foi ainda explicada a forma como era efectuado o controlo sanitário dos veados, bem como o acompanhamento e realização de recolhas de sangue e outros componentes para análise laboratorial.

Durante o estágio e escrita do presente estudo, foi possível ao autor fazer comunicações orais e em poster dos dados preliminares do presente trabalho, nomeadamente:

- Palestra “**Análise Parasitária de Cervídeos e Javalis na Tapada Nacional de Mafra**” no âmbito do II Aniversário do Núcleo da Associação de Estudantes – FAUNA (23 de Novembro de 2012) na Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa;
- Palestra “**Repercussões Sanitárias em Populações em Reservas**” no âmbito do Seminário “Novos Horizontes em Parasitoses de Animais Silvestres” (25 de Novembro de 2012) na Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa;
- *Poster* com o seguinte tema: “**Análise Parasitária de Ungulados Silvestres na Tapada de Mafra**” no Congresso da Sociedade Portuguesa de Parasitologia de 2013 da autoria de: Santos, D.J.; Gomes, L.M.; Soares, J.F.; Madeira de Carvalho, L.M.;
- *Poster* com o seguinte tema: “**Epidemiological features of parasite populations in wild ungulates**” na “International Conference on Diseases of Zoo and Wild Animals, 2013” em Viena, Áustria da autoria de: Santos, D.J.; Gomes, L.M.; Soares, J.F.; Madeira de Carvalho, L.M.;
- Palestra “**Aspectos da etiologia e epidemiologia do parasitismo em ungulados silvestres na Tapada Nacional de Mafra**” no âmbito da IVª Reunião de Ungulados Silvestres Ibéricos no Parque de Natureza de Noudar – Barrancos (20 de Setembro de 2013)

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Local de estudo

2.1.1 Tapada Nacional de Mafra

A Tapada Nacional de Mafra encontra-se situada no distrito de Lisboa, concelho de Mafra, freguesia de Mafra, sendo rodeada pelas freguesias da Malveira, Gradil e Vila Franca do Rosário. No seu eixo maior, o comprimento é de cerca de 6 km. A área total da Tapada de Mafra é de 1179 hectares (excluindo os 8 hectares do jardim do Cerco em Mafra) rodeados por 21 km de muro de alvenaria. No entanto, a Tapada Nacional de Mafra (TNM) contém apenas 819 hectares, estando os restantes 360 hectares sob administração militar.

A Tapada Nacional de Mafra apresenta grandes variações de relevo, variando a altitude entre os 80m e 358m. O bioclima existente é Mediterrânico Mesofítico Oceânico, com uma temperatura média anual de 14,4°C e uma precipitação média de 965,9mm, valores estes obtidos pela estação meteorológica da TNM entre 2000 e 2003 (Carrilho, 2003).

2.1.2 Flora

A TNM apresenta uma grande variedade de solos, sendo um factor extremamente importante para as diferentes espécies vegetais que aí se fixaram ou foram aí implementadas pelo Homem. A flora da TNM divide-se entre o extracto arbóreo e o extracto arbustivo. O primeiro foi sobre explorado até 1939, altura em que a TNM, foi entregue aos Serviços Florestais, começando então um esforço de recuperação do extracto arbóreo autóctone e controlo das espécies infestivas como é o caso do eucalipto.

São de registar pela sua importância no coberto vegetal da TNM, o carvalho português (*Quercus faginea*) e o sobreiro (*Quercus suber*), importantes pela produção da bolota, utilizada na alimentação da fauna alvo deste estudo. De referir ainda a presença abundante do pinheiro bravo (*Pinus pinaster*) e do pinheiro manso (*Pinus pinea*), que dominam grandes áreas e foram as duas espécies que sofreram um maior esforço de conservação desde 1939. É ainda de referir a existência e importância de outras espécies arbóreas, nomeadamente, o castanheiro (*Castanea sativa*), azinho (*Quercus rotundifolia*), zambujeiro (*Olea europea* var. *sylvestris*), o pilriteiro (*Crataegus monogyna* ssp. *brevispina*), o ulmeiro (*Ulmus minor*), o salgueiro (*Salix atrocinerea*) e ainda o eucalipto (*Eucalyptus globulus*) (Figura 1).

Quanto ao extracto arbustivo, este é dominado em cerca de 80% pelas urzes (*Erica lusitanica*, *E. scoparia* e *E. umbellata*), seguido de outras espécies lenhosas como é o caso do tojo (*Ulex jussiae*), a aroeira (*Pistacia lentiscus*), o carrasco (*Quercus coccifera*), o medronheiro (*Arbutus unedo*), o trovisco (*Daphne gnidium*), a murta (*Myrtis communis*), estevas (*Cistus crispus* e *C. salvifolius*), o sanguinho (*Rahmnus alaternus*), o aderno

(*Phyllirea latifolia*) e a gilbardeira (*Ruscus aculeatus*) (Figura 1). Acrescenta-se ainda espécies arbustivas do tipo liana das quais a mais importante e mais representada no território da TNM é a silva (*Rubus ulmifolius*). De referir ainda uma grande quantidade de gramíneas onde se destaca *Brachypodium phoenicoides* e outros bolbos, tubérculos e rizomas, dos quais se destacam os fetos (*Pteridium aquilinum*) pela grande área ocupada por esta espécie (Castro Rego, 2006).

Figura 1 – Extracto arbóreo e arbustivo de parte da TNM (original)



2.1.3 Fauna

2.1.3.1 Gamo (*Cervus dama dama*)

2.1.3.1.1 Taxonomia

Reino Animalia, Classe Mammalia, Superordem Ungulata, Ordem Artiodactyla, Família Cervidae, Subfamília Cervinae, Género *Cervus*, Espécie *Cervus dama*, subespécie *Cervus dama dama* (Linnaeus, 1758).

Actualmente, em todo o mundo estão descritas duas subespécies, o gamo europeu (*Cervus dama dama*) e o gamo persa (*Cervus dama mesopotamica*) que apresentam algumas diferenças morfológicas entre si (Braza, 2011).

2.1.3.1.2 Características Morfológicas

O gamo é um cervídeo de porte médio, sendo os machos maiores (garrote com 90 cm no macho e 70-80cm na fêmea) e mais pesados (70-100kg nos machos e 35-60kg nas fêmeas) que as fêmeas. Este cervídeo apresenta um grande dimorfismo sexual, não só pelo porte mas também pela presença das hastes no macho na sua idade adulta (figura 2). Estas

hastes caracterizam-se por ter um pedúnculo curto, três pontas e uma palma larga que se divide em várias pontas. Além disso, estas são mudadas num ciclo anual, uma vez que caem na altura do Inverno e voltam a crescer pela Primavera. O crescimento destas hastes é gradual com a idade dos animais (Braza, 2011).

Os gamos apresentam duas pelagens diferentes ao longo do ano. Na Primavera e Verão, a pelagem base é fulva mosqueada com manchas brancas. No entanto, o ventre e a face interna dos membros é de pelagem branca. No Outono e Inverno, a pelagem torna-se mais escura e desaparecem por completo as manchas brancas (Braza, 2011) (Figura 2).

Figura 2 - Gamo macho adulto (Pelagem de Outono/ Inverno) na TNM (original)



2.1.3.1.3 Organização Social e Ciclo Anual

Durante o ano reconhecem-se dois períodos distintos da organização social dos gamos. A época de reprodução e o resto do ano (Chapman & Chapman, 1975 citado por Maia, J., 1993).

Os grupos de machos adultos e fêmeas adultas, acompanhadas pelas crias e jovens machos, encontram-se separados durante o ano, juntando-se apenas para se reproduzirem (The British Deer Society (BDS), SD; Riglet, 1977 citado por Maia, J., 1993). O tamanho dos grupos, bem como o grau de segregação sexual depende da densidade populacional bem como do habitat (BDS, SD).

Durante a época reprodutiva que se situa no início do Outono (finais de Setembro, inícios de Outubro), os grupos voltam a reunir-se no território de reprodução. Os machos atingem a maturidade sexual aos 15/16 meses, no entanto, normalmente só se reproduzem a partir do quinto ano de idade, enquanto que as fêmeas se podem reproduzir a partir dos 16/17 meses de idade. Os gamos são uma espécie poligâmica (Braza, 2011).

Durante este período, os machos efectuam marcação de território, competição com outros machos e realizam a corte às fêmeas. Os machos emitem um som característico, denominado de ronca (BDS, SD; Braza, 2011). Este som atrai as fêmeas e dissuade possíveis competidores. Por vezes, os machos chegam mesmo a lutas, principalmente

quando aumentam as hipóteses de cópula com uma fêmea, existindo uma proporção directa entre o êxito das lutas e o número de cópulas (Braza, 2011).

Say, Naulty e Hayden (2003) demonstraram que os gamos que realizavam o maior número de cópulas, eram os machos responsáveis pelo maior número de crias, mas que os machos que copulam com fêmeas mais jovens têm tendência a reduzir o número de crias. As hipóteses levantadas são que as fêmeas mais jovens podem ser mais predispostas a abortar ou a ter uma taxa de mortalidade pós-natal superior.

Os machos que copulam num ano têm maior probabilidade de o realizar no ano seguinte do que aqueles que não o fazem. As probabilidades de reprodução diminuem em machos velhos sendo um sinal de senescência (McElligot, 2002).

O fim do cio das fêmeas é marcado pelo menor número e intensidade dos roncos dos machos, a sua menor agressividade e a dispersão em direcção aos locais de Inverno, bem como a separação dos grupos (Sousa, 2001).

As crias nascem após um período de gestação de 229 dias entre Maio e Junho. As fêmeas têm apenas uma cria por gestação. As crias nascem numa época mais favorável por existir uma maior abundância alimentar e com melhores condições climáticas (Braza, 2011).

2.1.3.1.4 Habitat e Alimentação

O habitat do gamo é difícil de descrever uma vez que a quantidade de plantas das quais o gamo se alimenta é muito ampla, no entanto, pode-se referir que os gamos habitam zonas preferencialmente de pradaria uma vez que estes se alimentam unicamente de vegetação rasteira. Podem no entanto habitar também zonas de limite de bosques ou mesmo junto a cursos de água (Braza, 2011).

A sua alimentação é exclusivamente herbívora. Segundo Garcia-Gonzalez & Cuartas (1992), a alimentação do gamo é maioritariamente à base de graminóides (40%), sendo os restantes 60% divididos entre *Quercus ilex* (20%), outras plantas lenhosas (20%) e outras plantas herbáceas produtoras de flor (20%). Num outro estudo realizado no sudeste espanhol, Martínez Martínez (2002), refere que a base da alimentação dos gamos são as plantas graminóides (57,4%), seguida de subarbustos (20,8%). O grupo que foi encontrado em terceiro lugar foram as árvores e arbustos (11,8%) e por fim as plantas herbáceas produtoras de flor (9%).

2.1.3.2 Veado (*Cervus elaphus*)

2.1.3.2.1 Taxonomia

Animalia, Mammalia, Cetartiodactyla, Ruminantia, Cervidae, Cervinae, *Cervus*, *Cervus elaphus* é a classificação taxonómica atribuída por Agnarsson & May-Collado (2008) a este

cervídeo. Na Península Ibérica, a subespécie que habita o território é *Cervus elaphus hispanicus* (Carranza, 2011).

2.1.3.2.2 Características Morfológicas

A subespécie ibérica, como referida anteriormente, apresenta diferenças em relação às outras subespécies europeias, nomeadamente no seu porte que é mais reduzido, apresenta uma pelagem mais clara e acinzentada, menos vermelha e a pelagem negra do escudo anal não é tão bem delimitada como no caso das restantes subespécies (Dolan, 1988 citado por Garde *et al.*, 2010) (Figura 3).

Existe um grande dimorfismo sexual, uma vez que os machos apresentam maior porte e presença de hastes, enquanto as fêmeas nunca apresentam hastes e têm um porte mais reduzido. No entanto, existem variações no tamanho dos animais, comparando as populações do norte com as do sul da Península Ibérica, sendo as do norte maiores que as do sul (Garde, *et al.*, 2010; Carranza, 2011).

Figura 3 – Veado macho na TNM (original)



2.1.3.2.3 Organização Social e Ciclo Anual

Os veados são uma espécie poligâmica, pelo que os machos durante a época reprodutiva tentam cobrir o máximo de fêmeas possível. Uma vez que o nascimento das crias ocorre na altura de maior abundância alimentar, que acontece a meio da Primavera, as fêmeas iniciam cio no início do Outono (últimas semanas de Setembro e primeiras de Outubro), quando conseguem recuperar a condição corporal devido à queda da bolota (Carranza, 2011). A época reprodutiva denomina-se por brama, uma vez que os machos emitem vocalizações, pretendendo chamar a atenção das fêmeas e desafiando machos com os quais queiram competir. Os bramidos são uma primeira fase da competição, seguindo-se os combates que decidem qual o macho que ficará com as fêmeas.

Malo, Roldan, Garde, Soler & Gomendio (2005) verificaram que o tamanho e elaboração das hastes era directamente proporcional com a capacidade produtiva de espermatozóides bem

como a sua velocidade de progressão, pelo que estes são um factor de atracção para as fêmeas. Após a época reprodutiva, durante todo o Inverno e início de Primavera, os machos dispersam pelo território e as fêmeas vivem em grupos matriarcais. O tempo de gestação para as cervas da subespécie ibérica é de 221 a 238 dias (Garde, *et al.*, 2010). Os nascimentos ocorrem durante o mês de Maio. As cervas amamentam as crias durante aproximadamente 4 meses, altura em que as crias começam a integrar progressivamente erva na sua dieta. Os machos desenvolvem-se fisicamente até aos 5 anos, altura em que devem iniciar a formação do seu harém. O seu pico reprodutivo decorre entre os cinco e os nove anos, sendo a partir desta idade em que os animais começam a envelhecer e a sua qualidade reprodutiva a decair. As fêmeas, a partir do segundo ano de vida até ao final da sua vida podem produzir uma cria por ano. A longevidade de um macho chega normalmente aos 12-13 anos, enquanto as fêmeas podem atingir os 20 anos (Carranza, 2011).

2.1.3.2.4 Habitat e Alimentação

Na Península Ibérica, a subespécie ibérica habita em Portugal e Espanha, habitando zonas com cobertura lenhosa que lhes proporciona refúgio. Estes habitam zonas que apresentem coberto vegetal de bosques, com vegetação arbustiva ou com produção de plantas herbáceas.

Sendo um animal herbívoro, a sua alimentação é dividida entre plantas herbáceas e plantas lenhosas, havendo uma preferência pela primeira, especialmente por leguminosas de prado e o recurso às segundas somente quando escasseiam as plantas herbáceas. Desta forma, na Primavera e Outono predomina a alimentação com base em plantas herbáceas e no Verão predomina a alimentação com plantas lenhosas (Carranza, 2011). Bugalho, Milne & Racey (2001) verificaram que em ambiente mediterrânico a alimentação varia entre sexos devido às diferenças de portes. Assim os machos alimentam-se com maior quantidade de plantas lenhosas (sobreiro – *Quercus suber*) do que as fêmeas por terem maior facilidade em alcançar as suas folhas. Foi ainda observado que as fêmeas se alimentavam com mais plantas forrageiras do que os machos.

Num estudo realizado por Bugalho & Milne (2003) em Portugal, verificaram que a alimentação dos veados em clima mediterrânico se baseava em sobreiro (26%) e estevas (20%), sendo os restantes elementos variáveis conforme o ano do estudo. Os restantes elementos avaliados foram a azinheira, pasto (mais de 50% num dos anos), amora silvestre (em dois dos anos do estudo apresentou percentagens entre 20 e 30%), freixo e oliveira. Garcia-Gonzalez & Cuartas (1992) também verificaram a alimentação de veados em ambiente mediterrânico, tendo concluído que 65% da alimentação tinha por base sobreiro, 15% outras plantas lenhosas, 10% eram plantas herbáceas produtoras de flor e os outros 10% eram graminóides.

2.1.3.3 Javali (*Sus scrofa*)

2.1.3.3.1 Taxonomia

O javali pertence ao Reino Animamalia, Filo Chordata, Classe Mammalia, Ordem Artiodactyla, Família Suidae, Género *Sus*, Espécie *Sus scrofa ferus*

2.1.3.3.2 Características Morfológicas

O javali é um suíno silvestre de porte médio, e com um dimorfismo sexual pouco marcado. A pelagem é bastante escura nos adultos, acabando por ficar grisalha em adultos de idade mais avançada (Figura 4). No entanto, as crias até aos seis meses de idade apresentam uma coloração com riscas ao longo do dorso, pelo que são conhecidos por listados. Dos seis meses até um ano a sua coloração muda para uma pelagem vermelho-acastanhado. O formato do corpo dos javalis é arredondado, tendo no entanto uma cabeça fusiforme. Os machos são maiores que as fêmeas variando o peso dos machos entre 75 e 85kg e nas fêmeas entre 55 e 65kg. O peso varia também conforme a região em que os javalis habitam. O grande factor de diferenciação entre machos e fêmeas é o desenvolvimento constante dos caninos dos machos ao longo de toda a sua vida (Fernández-Llario, 2008).

Figura 4 - Javali fêmea adulto na TNM (original)



2.1.3.3.3 Organização Social e Ciclo Anual

Fernández-Llario, Carranza & Hidalgo de Trucios (1996) estudaram a estrutura social dos javalis no parque de Doñana em Espanha. Verificaram que os grupos variaram no número de elementos entre 1 e 11 indivíduos. Os grupos foram mais pequenos em Novembro ($2,48 \pm 0,22$) aumentando até ao pico em Maio ($3,79 \pm 0,25$) decrescendo daí em diante. O número máximo por grupo correspondeu à altura dos nascimentos. A estrutura dos grupos varia com o sexo dos animais envolvidos e ao longo do ano. O único grupo que se mantém constante é o grupo de um ou mais machos (20%). O grupo misto com machos e fêmeas adultas apresenta uma maior percentagem durante a época reprodutiva (25%), diminuindo depois ao longo do ano. Os grupos de adultos e sub-adultos também atingem o seu pico na

época reprodutiva (23%), reduzindo depois desta época. Os grupos mistos de machos e fêmeas adultos com crias aumenta após a época de nascimentos mantendo-se até à época reprodutiva, altura em que decresce. Os grupos de subadultos mantêm-se constantes ao longo do ano em percentagem (12%). Os grupos que têm apenas fêmeas crescem em percentagem durante a gestação e diminuem drasticamente na época reprodutiva. Os grupos de fêmeas adultas com subadultos aumentam a partir da época de nascimentos, até à época reprodutiva, altura em que voltam a decrescer. Os grupos de fêmeas com crias têm o seu pico na época de nascimento podendo atingir 15% do total de grupos. Os grupos de fêmeas com subadultos e crias e os grupos de adultos com crias mantêm-se relativamente constantes ao longo do ano.

Normalmente, a época normal de concepção encontra-se entre finais de Outubro e início de Novembro e depende essencialmente da condição corporal das fêmeas (Fernández-Llario, 2005).

2.1.3.3.4 Habitat e Alimentação

O javali habita uma grande variedade de habitats. Na Península Ibérica, este ungulado encontra-se espalhado numa grande variedade de habitats existentes de norte a sul (Fernández-Llario, 2008). Virgós (2002) tentou perceber se a divisão do território florestal e de cultivo em parcelas afectava a distribuição dos javalis em Espanha, tendo percebido que estes preferem grandes fragmentos de floresta, que estejam adjacentes a outras grandes florestas perto de montanhas ou zonas ribeirinhas.

O javali é uma espécie omnívora, que contrabalança a sua alimentação entre espécies vegetais e animais e que aproveita os recursos conforme a época do ano e a disponibilidade do ecossistema. Apesar de o javali consumir uma grande quantidade de espécies vegetais, o facto de ser uma espécie monogástrica, só lhe permite retirar cerca de 30% da proteína disponível nestes alimentos. A alimentação animal baseia-se no consumo de invertebrados. O javali tem como característica da espécie procurar o alimento revolvendo o solo usando o focinho, acto denominado de foçar. O javali foça especialmente junto de plantas leguminosas para procurar uma maior quantidade de invertebrados e plantas com maior quantidade proteica. Segundo Fernández-Llario (2008), durante a Primavera os javalis não necessitam de foçar uma vez que o coberto vegetal é suficiente para cobrir as suas necessidades alimentares. O pico do acto de foçar decorre no Inverno e atinge o seu mínimo no Verão uma vez que neste período o solo apresenta piores condições para a realização deste acto (Cahill, Llimona & Gràcia, 2003).

O javali em Portugal consome todo o tipo de matérias vegetais, preferindo a bolota e a castanha no Outono e Inverno. Alimenta-se ainda de todas as espécies de roedores, coelhos, répteis, anfíbios, invertebrados e dos cadáveres de outros mamíferos (Bruno de Sousa, 2001).

2.2 Parasitas

2.2.1 Parasitas do Gamo

Os parasitas gastrointestinais e pulmonares são os parasitas mais comuns tanto no gamo como no veado (Medne *et al.*, 2009).

Nos Estados Unidos na América, num estudo efectuado por Davidson, Crum, Blue, Sharp & Phillips (1985), foram observados sete nemátodes (*Gongylonema pulchrum*, *Apteragia odocoilei*, *Apteragia pursglovei*, *Spiculopteragia asymmetrica*, *Capillaria bovis*, *Nematodirus odocoile* e *Oesophagostomum venulosum*), um protozoário (*Theileria cervi*) e um artrópode (*Amblyomma americanum*). Todos os parasitas se apresentavam em infecções moderadas, excepto *Spiculopteragia asymmetrica* e *Theileria cervi* que se apresentavam como infecções altas em dois dos três hospedeiros. O artrópode *Amblyomma americanum* também apresentava uma infecção no limite com 100 exemplares assinalados. No mesmo país, um estudo realizado em gamos criados numa quinta demonstrou a existência de *Haemonchus contortus* (16%) e *Oesophagostomum venulosum* (11%). Os artrópodes observados foram ixodídeos das espécies *Amblyomma americanum*, *Dermacentor albipictus* e *Ixodes scapularis*, tendo os dois primeiros 38% de prevalência e o terceiro 8% (Richardson & Demarais, 1992). Num terceiro estudo realizado nas ilhas de St. Simons, foram observadas várias espécies de nemátodes gastrointestinais, nomeadamente *Spiculopteragia asymmetrica*, *Mazamastrongylus odocoilei*, *Ostertagia mossi*, *Ostertagia ostertagi*, *Trichostrongylus askivali*, *Setaria yehi*, *Trichuris* spp. e *Capillaria* spp. (Morse, Miller, Miller & Baldwin, 2009).

Na Eslováquia, num estudo coprológico realizado em quintas de produção de gamos de quatro regiões diferentes, a prevalência de oocistos de *Eimeria* spp. variou entre 0 e 50%. No caso dos nemátodes pulmonares, foi registado *Dictyocaulus* spp. apenas numa das regiões (12,5%) enquanto que *Protostrongylus* spp. foi assinalado em todos sendo a prevalência variável (1–6 %). Os estrongilídeos gastrointestinais apresentaram prevalências mais elevadas variando entre os 30 a 85% dos animais analisados. Os parasitas do género *Strongyloides* variaram entre 0 a 20%. No caso dos tremátodes, a *Fasciola hepatica* não foi assinalada em nenhuma das regiões, mas o género *Paramphistomum* foi assinalado em uma das regiões com uma prevalência de 25% (Medne *et al.*, 2009).

Num estudo realizado em toda a ilha da Irlanda, apenas uma espécie de ixodídeo foi assinalada no gamo, nomeadamente *Ixodes ricinus*. O parasita gastrointestinal mais assinalado (100%) foi *Spiculopteragia asymmetrica*. No intestino de três gamos, foram recuperados espécimes de *Nematodirus fillicolis*. Um exemplar de *Trichuris* sp. foi também encontrado nos intestinos de um dos animais observados. Quanto aos nemátodes pulmonares, os parasitas do género *Dictyocaulus* foram assinalados em gamos, mas apenas nas crias (Sleeman, 1983).

Balicka-Ramisz, Pilarczyk, Ramisz & Cisek (2005), num estudo realizado na Polónia, assinalaram vários nemátodes gastrointestinais no gamo, nomeadamente *Spiculopteragia boehmi* (30,76%), *Spiculopteragia mathevossiani* (3,84%), *Spiculopteragia asymmetrica* (15,3%), *Ostertagia kolchida* (3,84%), *Ostertagia leptospicularis* (1,92%), *Haemonchus contortus* (3,84%), *Chabertia ovina* (7,69%), *Oesophagostomum venulosum* (51,9%), *Nematodirus* spp. (7,7%), *Trichuris ovis* (9,67%), *Capillaria bovis* (3,84%) e *Trichostrongylus axei* (1,92%). Os nemátodes pulmonares assinalados foram *Elaphostrongylus cervi* (56,6%) e *Varestrongylus sagittatus* (46,15%). Noutro estudo realizado na Polónia, foram assinaladas as mesmas espécies de parasitas gastrointestinais com prevalências semelhantes, excepto nas seguintes espécies: *Ostertagia leptospicularis* (4%), *Oesophagostomum venulosum* (44%), *Trichuris ovis* (8%) e *Trichostrongylus axei* (4%) (Cisek, Balicka-Ramisz, Ramisz & Pilarczyk, 2003a). Cisek, Balicka-Ramisz, Ramisz & Pilarczyk (2003b) efectuaram uma pesquisa de nemátodes pulmonares nas fezes de gamos no noroeste polaco, tendo encontrado *Elaphostrongylus cervi* (58,82%) e *Varestrongylus sagittatus* (47,06%). Szczurek & Kadulski (2004) efectuaram um estudo para averiguar quais os ectoparasitas que afectavam os gamos na Polónia, tendo encontrado 8 espécies, nomeadamente: *Liptotena cervi* (76%), *Damalinia meyeri* (7%), *Solenopotes burmeisteri* (1%), *Ixodes ricinus* (29%), *Dermacentor reticulatus* (2%), *Sarcoptes scabiei* (1%), *Chorioptes texanus* (1%) e *Demodex kutzeri* (1%). No caso do *Ixodes ricinus*, 40% dos machos adultos foram afectados, enquanto as fêmeas adultas representavam apenas metade desse valor. As crias foram as menos afectadas por este parasita. Verificou-se ainda que o pico de infecção dos animais era no Verão (67%) seguido do Outono (38%) e Primavera (33%).

Numa pesquisa realizada por protostrongilídeos na Bulgária, nenhum dos animais inspeccionados apresentou qualquer parasita desta família (Panayotova-Pencheva, 2006). Na Suécia, um estudo pesquisou parasitas do género *Dictyocaulus*, tendo encontrado sete animais positivos numa população de 68 (Divina, Wilhelmsson, Mörner, Mattsson & Höglund, 2002).

No estudo realizado por Santín-Durán, Alunda, Hoberg e de la Fuente (2004) na província de Toledo em Espanha, verificou-se que a prevalência de *Spiculopteragia asymmetrica*/ *S. quadrispiculata* era de 81,3%, 12,5% para *Ostertagia leptospicularis*/ *O. kolchida* e 62,5% para *O. drozdzi*/ *O. ryjkovi*.

2.2.2 Parasitas do Gamos em Portugal

Existem alguns estudos publicados em Portugal que apontam para a biodiversidade de parasitas que se encontram nos ungulados silvestres, sendo muito deles efectuados na TNM pelas suas características únicas.

Maia (1993), assinalou a presença de *Fasciola hepatica* em gamos da TNM com uma prevalência de 15,38%. *Fasciola hepatica* apresentou a mesma prevalência nos gamos que *Oesophagostomum venulosum*. Foi verificada ainda a existência de um *Cysticercus* spp (7,6%) no peritoneu de um dos gamos abatidos. Quanto aos ixodídeos encontrados, estes são das espécies *Ixodes ricinus* (100%), *Hyalomma lusitanicum* (22,2%), *Hyalomma punctata* e *Hyalomma inermis*, com a mesma prevalência de 11,1%.

Existe referência também ao *Oesophagostomum venulosum* em gamos da Tapada de Vila Viçosa (Maia, Viçosa, Simões & Caeiro, 1994).

Num outro estudo realizado na TNM, os helmintes que foram observados em necrópsia foram *Fasciola hepatica* (15,4%), *Oesophagostomum venulosum* (15,4%) e *Cysticercus tenuicollis*. Apesar de *Fasciola hepatica* ter uma prevalência baixa, 77% dos animais apresentavam lesões hepáticas, indicadoras de infecções antigas. Nas coprologias foram ainda observados ovos de *Trichuris* spp., *Capillaria* spp. e *Strongyloides* sp. (Maia, 2001).

Foi ainda realizado mais um estudo na Tapada Nacional de Mafra, onde se verificaram formas parasitárias de nemátodes gastrointestinais da espécie *Spiculopteragia spiculoptera*, *Ostertagia leptospicularis*, *Oesophagostomum venulosum* e *Trichuris* spp. Mais uma vez foi registado *Fasciola hepatica* com uma prevalência de 44%. Nos protozoários, 100% dos gamos encontravam-se infectados por *Cryptosporidium* spp. (Bruno de Sousa, 2001).

2.2.3 Parasitas do Veado

Medne *et al.* (2009) afirmou que os parasitas mais comuns tanto no veado como no gamo são os parasitas gastrointestinais e pulmonares.

Na Croácia, foi realizado um estudo em 41 veados abatidos em acto de caça. Os espécimes recuperados foram de *Dictyocaulus* spp. (29,3%), *Eimeria* spp. (2,4%), *Elaphostrongylus* spp. (14,6%), *Oesophagostomum* spp. (7,3%), *Ostertagia circumcincta* (2,4%), *Ostertagia* spp. (17,1%), *Ostertagia trifurcata* (2,4%), *Protostrongylus* spp. (2,4%), *Trichostrongylus* spp (7,3%), *Trichostrongylus vitrinus* (2,4%) e *Trichuris* spp. (2,4%). Foi ainda observado um ectoparasita da espécie *Lipoptena cervi* com uma prevalência de 2,4% (Kusak *et al.*, 2012).

Na Eslováquia foi realizado um estudo em quatro quintas de produção de cervídeos para pesquisa de parasitas gastrointestinais e pulmonares. Nesse estudo observou-se *Eimeria* spp. (0 – 10,7%), *Dictyocaulus* spp. (0 – 52,9%), *Protostrongylus* spp. (20 – 59,5%), *strongilídeos* gastrointestinais (29,2 – 84,3%), *Strongyloides* sp. (0 – 16,2%), *Trichuris* spp. (0 – 50%), *Fasciola hepatica* (0 – 3%), *Paramphistomum* spp. (0 – 2,6%) e *Moniezia* spp. (0 – 3,8%) (Medne *et al.*, 2009).

Na Irlanda foi realizado um estudo onde foram recuperados de quatro veados os seguintes helmintes: *Spiculopteragia asymmetrica*, *Ostertagia leptospicularis*, *Ostertagia ostertagi*, *Nematodirus fillicolis*, *Oesophagostomum venulosum*, *Trichuris* spp., *Dictyocaulus* spp. e *Fasciola hepatica*. Os artrópodes retirados dos animais foram *Ixodes ricinus*, *Lipoptena*

cervi, *Hypoderma diana*, *Cephenomyia auribarbis*, *Solenopotes burmeisteri*, *Damalinia longicornis* e *Damalinia concavifrons* (Sleeman, 1983).

No noroeste polaco foi realizado um estudo que verificou que a prevalência de animais parasitados variava entre 27,27% e 88% dos animais. Nesse estudo, os parasitas encontrados no veado eram os seguintes: *Spiculopteragia boehmi* (26,47%), *Spiculopteragia mathevossiani* (1,47%), *Ostertagia kolchida* (5,88%), *Ostertagia leptospicularis* (13,24%), *Haemonchus contortus* (10,29%), *Chabertia ovina* (7,35%), *Oesophagostomum venulosum* (10,29%), *Nematodirus* spp. (4,41%), *Trichuris ovis* (4,41%) e *Capillaria bovis* (1,47%) (Cisek et al., 2003a).

Na Bulgária, Panayotova-Pencheva (2006), pesquisou parasitas pulmonares quer por técnica de Baerman para observação de L1 quer por observação das vias aéreas com recuperação de adultos. No Baerman, em dois dos três veados pesquisados obtiveram-se larvas de *Elaphostrongylus* spp. e em um dos veados que apresentava estas larvas foram encontradas também larvas de *Varestrongylus* spp. Quando aberto o pulmão deste veado encontrou-se adultos de *Varestrongylus sagittatus*.

As espécies assinaladas anteriormente foram as mesmas que Cisek et al. (2003b) assinalou na Polónia, tendo *Elaphostrongylus cervi* uma prevalência de 88,37% e o *Varestrongylus sagittatus* de 67,44%. Na Polónia foi realizado também um estudo para verificar as prevalências de *Cryptosporidium* spp. em vários mamíferos. Em duas recolhas verificou-se que em animais silvestres a prevalência era de 26,9%, enquanto nos animais criados em quintas a prevalência era de apenas 4,5% (Paziewska, Bednarska, Niewęglowski, Karbowski & Bajer, 2007).

Num estudo realizado na Suécia, tentou perceber-se quais as espécies de *Dictyocaulus* que afectavam os veados, tendo-se concluído que a espécie que afecta estes animais é *Dictyocaulus eckerti* (Divina et al., 2002).

Em Espanha, Santín-Durán (2004) fez uma avaliação das parasitoses gastrointestinais em três regiões do país, tendo verificado que o parasita mais prevalente é *Spiculopteragia asymmetrica*/ *Spiculopteragia quadrispiculata* variando a sua prevalência entre 96,3% e 100% dos animais, seguida de *Ostertagia leptospicularis*/ *Ostertagia kolchida* que varia entre 7,69% e 67,9% e de *Ostertagia drozdzi*/ *Ostertagia ryjkovi* com prevalências a variar entre 0% e 33,3%. Também se verificou a existência de *Trichostrongylus axei*, com prevalências interessantes num dos locais e de forma residual noutro dos locais. Num outro estudo, procurou verificar-se a existência de diferentes prevalências entre crias e adultos, para as seis espécies de parasitas, no entanto, não se verificou nenhuma diferença estatisticamente significativa (Santín-Durán, Alunda, Hoberg e de la Fuente, 2008).

Num estudo realizado nas províncias de Toledo e Ciudad-Real, observou-se a existência dos seguintes nemátodes: *Capillaria* spp. (2,97%), *Cooperia pectinata* (2,97%), *Cooperia punctata* (2,97%), *Dictyocaulus viviparus* (2,27%), *Elaeophora elaphi* (23,17%), *Gongylonema*

pulchrum (26,09%), *Oesophagostomum radiatum* (2,97%), *Oesophagostomum venulosum* (80,20%), *Ostertagia kolchida* (4,85%), *Ostertagia leptospicularis* (26,21%), *Ostertagia lyrata* (63,11%), *Ostertagia ostertagi* (22,33%), *Spiculopteragia asymmetrica* (77,67%), *Trichostrongylus axei* (0,97%), *Trichuris globulosa* (1,98%), *Trichuris ovis* (2,97%), *Trichuris skrjabini* (3,97%). O céstode correspondia a *Moniezia benedeni* (<1%), o acantocéfalo a *Macracanthorhynchus hirudinaceus* e o anopluro a *Haematopinus* spp. (1,3%). Os dípteros observados pertenciam às espécies *Cephenemyia auribarbis* (20%), *Hippobosca equina* (16,88%) e *Pharyngomyia picta* (52%), enquanto os ixodídeos pertenciam às espécies *Dermacentor marginatus* (2,6%), *Hyalomma lusitanicum* (42,86%), *Ixodes ricinus* (7,79%) e *Rhipicephalus bursa* (18,18%) (García-Romero, Valcárcel, Corchero, Olmeda & Pérez-Jiménez, 2000). Valcárcel, Corchero, Olmeda, Rojo Vázquez & García Romero (2002) realizaram novo estudo na província de Castilla-La Mancha onde se recolheram parasitas de 196 animais. As principais diferenças nas prevalências foram na *Spiculopteragia asymmetrica* (68,88%), *Ostertagia lyrata* (45,41%), *Oesophagostomum venulosum* (65,82%), *Capillaria* spp. (8,67%) e no *Nematodirus* spp. (0,51%).

Na província de Léon, foi realizado um estudo onde se verificou a existência de nódulos de *Onchocerca* spp. e larvas de *Hypoderma* spp. em 100% e 70% dos animais avaliados, respectivamente. Dos 10 animais estudados, apenas um não apresentou *Sarcocystis* spp. A prevalência de parasitas gastrointestinais foi de 100% para o abomaso, intestino delgado e cego. As únicas espécies encontradas de parasitas pulmonares pela Técnica de Baerman foram *Varestrongylus sagittatus* e *Dictyocaulus viviparus*. Em observação do pulmão encontraram-se adultos deste último, com uma prevalência de 50%. Nove dos dez animais apresentavam espécimes de *Dicrocoelium* sp. no fígado (Martínez Delgado, Díez Baños & Hidalgo Argüello, 2006).

Noutro estudo realizado na província de Toledo, identificou-se *Rhipicephalus bursa* e *Hyalomma lusitanicum* na pele dos veados, bem como larvas de *Hypoderma* spp. e *Onchocerca* spp. no tecido subcutâneo. Encontraram-se também *Pharyngomyia picta* e *Cephenemyia auribarbis* em 76% dos animais. A observação da Técnica de Baerman, revelou a presença de larvas L1 de *Elaphostrongylus cervi* (95%). No tracto gastrointestinal foram observados os seguintes parasitas: *Gongylonema pulchrum* no esófago, trichostrongilídeos no abomaso (84% dos animais), *Moniezia benedeni* (4%) no intestino delgado e *Oesophagostomum* spp (86%) e *Trichuris* spp. (19%) no cego. No fígado foram observadas formas adultas de *Elaeophora elaphi* (5%) e *Cysticercus tenuicollis* (2%). Em 88% dos animais foi observado *Sarcocystis* spp. (San Miguel, Álvarez & Luzón, 2001).

Foi ainda efectuado um estudo para verificar quais as espécies de ixodídeos que afectavam o veado em território espanhol. Verificou-se que a prevalência de animais parasitados foi de $41.3 \pm 0.08\%$. Foram encontradas 10 espécies, nomeadamente, *Hyalomma marginatum* (63,7%), *Rhipicephalus annulatus* (7,9%), *Rhipicephalus bursa* (7,5%), *Ixodes*

ricinus (3,7%), *Hyalomma lusitanicum* (2,3%), *Haemaphysalis concinna* (1%), *Rhipicephalus pusillus* (0,8%), *Haemaphysalis punctata* (0,3%), *Dermacentor marginatus* (0,2%) e *Haemaphysalis sulcata* (0,02%) (Ruiz-Fons et al., 2006).

Díez-Baños, Delgado & Argüello (2009) efectuaram um estudo em três parques naturais da zona norte da província de León em Espanha, tendo avaliado amostras fecais para testes qualitativos e quantitativos a fígados de corços (*Capreolus capreolus*), camurças (*Rupicapra rupicapra*) e veados para pesquisa de parasitas adultos ou estádios larvares de céstodes. Os ovos de *Fasciola hepatica* foram observados em 1,42% dos animais, tendo obtido uma média de $87,73 \pm 53,08$ OPG. Também foram observados ovos de *Dicrocoelium dendriticum* em 3,12% dos animais, tendo sido obtida uma média de $57,21 \pm 78,85$ OPG. Os adultos de *Fasciola hepatica* foram observados em 4 corços e 6 veados com uma prevalência de 3,21% com uma intensidade média de $6,30 \pm 10,62$ espécimes. Os adultos de *Dicrocoelium dendriticum* foram observados em 21,22% dos animais com uma intensidade média de $22,29 \pm 29,13$ espécimes.

2.2.4 Parasitas do Veado em Portugal

Num estudo efectuado na Tapada Nacional de Mafra, Maia (1993) assinalou a existência de *Fasciola hepatica*, *Cysticercus* sp., *Oesophagostomum* spp., *Ixodes ricinus*, *Haemaphysalis punctata*, *Haemaphysalis inermis* e *Dermacentor marginatus*. As prevalências referidas neste estudo e em Maia (2001) referentes à *Fasciola hepatica* eram de 33,3%, de *Oesophagostomum* spp. eram de 25%. No entanto, a prevalência de *Haemonchus contortus* era de apenas 8,4% (Maia, 2001).

Num estudo efectuado em Montemor-o-Novo foram observados *Pharyngomyia picta* nas fossas nasais e *Hypoderma lineatum*, *Hypoderma diana*, *Hypoderma acteon* e *Calliphora* sp. na pele do dorso e costados dos animais (Maia et al., 1994).

Sousa, Jonquères, Silva & Madeira de Carvalho (2009) efectuaram um estudo em veados abatidos em montarias de Castelo Branco e Idanha-a-Nova para observação de ectoparasitas. A prevalência de animais parasitados foi de 87,1%. As espécies de ixodídeos identificadas foram *Hyalomma lusitanicum* (88,3%), *Ixodes ricinus* (41,2%) e *Rhipicephalus sanguineus* (5,9%). Foram ainda observados duas espécies de moscas, agentes de míases, nomeadamente, *Hypoderma bovis* (50%) e *Cephenemyia auribarbis* (29,4%). Foram ainda observadas duas espécies de hippoboscídeos, nomeadamente, *Hippobosca equina* (47%) e *Lipoptena cervi*. Em 11,8% dos animais parasitados observou-se *Simulium equinum* nos pavilhões auriculares e em 2,9% dos veados observaram-se nematóides do género *Thelazia* no saco conjuntival.

2.2.5 Parasitas do Javali

Na Eslováquia, Medne et al. (2009) verificaram que os parasitas existentes nos javalis eram *Eimeria* spp. (84%), estrongilídeos gastrointestinais (62%), *Strongyloides* spp. (24%),

Trichuris spp. (10%) e *Ascaris suum* (14%). As infecções por metastrongilídeos eram inexistentes nos animais avaliados. Noutro estudo realizado no mesmo país foi avaliada a seropositividade em javalis das seguintes parasitoses: *Trichinella* spp (1,3%), *Toxocara* spp. (7,2%) e *Ascaris suum* (6,1%) (Antolová, Reiterová & Dubinský, 2006).

Num estudo realizado na Iha de Saaremaa na Estónia, verificou-se que as maiores prevalências pertenciam aos nemátodes pulmonares, das seguintes espécies: *Metastrongylus pudendotectus* (78%), *Metastrongylus elongatus* (41%) e *Metastrongylus salmi* (77%). Foram ainda observados dois nemátodes gastrointestinais, nomeadamente *Trichuris suis* (21%) e *Ascaris suum* (9%), bem como *Cysticercus tenuicollis* (20%) e o tremátode *Dicrocoelium dendriticum* (9%) (Järvis, Kapel, Moks, Talvik & Mägi, 2007).

Na Croácia, foi realizado um estudo para verificar quais os helmintes presentes nos javalis, tendo sido encontradas 14 espécies diferentes, nomeadamente, *Metastrongylus apri* (66,7%), *Metastrongylus pudendotectus* (80,9%), *Gongylonema pulchrum* (27,7%), *Physocephalus sexalatus* (25,5%), *Ascarops strongylina* (57,5%), *Hyostrongylus rubidus* (2,1%), *Globocephalus urosubulatus* (93,6%), *Gnathostoma hispidum* (6,4%), *Macracanthorhynchus hirudinaceus* (2,1%), *Oesophagostomum dentatum* (2,1%), *Trichinella* spp. (4,3%), *Echinococcus hydatidosus* (4,3%), *Cysticercus tenuicollis* (8,5%) e *Echinochasmus perfoliatus* (12,8%). Quando se separou os animais abatidos de áreas livres dos de áreas vedadas, a prevalência de nemátodes pulmonares foi superior em áreas vedadas enquanto que os nemátodes e céstodes gastrointestinais foram mais prevalentes em animais de zonas livres (excepto *Globocephalus urosubulatus*). Comparando ambos os sexos verificou-se que os parasitas pulmonares foram mais prevalentes nas fêmeas. Tendo em conta as faixas etárias verificou-se que os parasitas pulmonares vão diminuindo de prevalência com a idade enquanto os nemátodes gastrointestinais mais prevalentes aumentam em proporção directa com a idade, excepto *Globocephalus urosubulatus*. (Rajković-Janje, Bosnić, Rimac, Dragičević & Vinković, 2002).

Num estudo realizado na Hungria, foram comparadas três áreas de caça, duas com vedação e uma de área livre. Foram avaliadas as prevalências de parasitas pulmonares, tendo-se verificado que na primeira área vedada a prevalência era de 50,5%, na segunda área vedada era de 90,8% e na área livre era de 88,2% (Varga, Sugár & Kőrös, 2005).

Na Itália, nos testes coprológicos efectuados em fezes de javali foram detectados oocistos de *Eimeria* spp., ovos de estrongilídeos gastrointestinais, *Trichuris suis*, spirurídeos, *Ascaris suum*, *Dicrocoelium* spp. e *Metastrongylus* spp. (Magi, Bertani, Dell'Omodarme, Prati & Poglajen, 2005).

Na Polónia, foram avaliadas as espécies de *Metastrongylus* que afectavam os javalis. Numa amostra de 25 animais, 76% apresentavam *Metastrongylus pudendotectus*, 64% *Metastrongylus elongatus*, 72% *Metastrongylus salmi*, 76% *Metastrongylus confusus* e 40% *Metastrongylus asymmetricus*. Os animais com menos de um ano apresentaram

prevalências mais baixas do que os animais adultos. Os machos apresentaram prevalências bastante mais elevadas (54,5% - 90,9%) que as fêmeas (28,6% - 64,3%) (Nosal, Kowal & Nowosad, 2010).

Num estudo realizado em França, na ilha de Córsega, foram encontradas apenas seis espécies de helmintes, nomeadamente o tremátode *Dicrocoelium dendriticum*, a forma larvar do céstode *Echinococcus granulosus*, três nemátodes (*Globocephalus urosubulatus*, *Metastrongylus* spp. e *Ascaris suum*) e uma espécie de Acanthocephala, nomeadamente, o *Macracanthorhynchus hirudinaceus* (Foata, Culioli & Marchand, 2005). Também em França, se observou que quatro populações de javali tinham uma prevalência de 98,1% de parasitas pulmonares, nomeadamente *Metastrongylus pudendotectus*, *Metastrongylus salmi* e *Metastrongylus confusus*. Quanto aos parasitas gastrointestinais, a prevalência foi de 19,2% para coccídeos e 3,8% para *Trichuris suis* e *Capillaria myoxinitelae* (Vedrine, 2006). Um terceiro estudo verificou que na zona norte do país a prevalência de nemátodes pulmonares (*Metastrongylus pudendotectus*, *Metastrongylus salmi* e *Metastrongylus confusus*, *Metastrongylus elongatus* e *Metastrongylus asymmetricus*) foi de 92% enquanto que a prevalência de nemátodes gastrointestinais (*Ascarops strongylina* e *Physocephalus sexalatus*) foi de 97%. As intensidades, quer para os nemátodes pulmonares, quer para os nemátodes gastrointestinais foram superiores em animais com menos de um ano de idade (Humbert & Henry, 1989). Em França, um estudo realizado ao longo de 5 anos, nenhum dos 1321 javalis abatidos foi positivo para triquinose (Chassaing, 2001).

Fernandez-de-Mera, Gortazar, Vicente, Höflea & Fierro (2003) efectuaram um estudo na zona centro-sul de Espanha onde estudaram uma população de javalis caçados e compararam com uma população de javalis importados de França. Os parasitas encontrados apenas na população espanhola foram *Gongylonema pulchrum* (21,4%) e *Macracanthorhynchus hirudinaceus* (53,3%), enquanto os parasitas encontrados apenas na população importada foram *Oesophagostomum dentatum* (22,2%), *Ascaris suum* (44,4%), *Trichuris suis* (33,3%) e *Capillaria garfiai* (11,1%). Os parasitas encontrados em ambas as populações não apresentaram diferenças significativas de prevalências, excepto o *Ascarops strongylina* que apresentou uma prevalência de 11,1% na população importada e 60% na população autóctone. Os restantes parasitas assinalados foram *Globocephalus urosubulatus*, *Metastrongylus* spp., *Physocephalus sexalatus* e *Simondsia paradoxa*.

Na província de Valência foi realizado outro estudo, para verificar a fauna parasitária existente nos javalis, tendo-se verificado a existência de *Cysticercus tenuicollis* (19%), *Ascarops strongylina* (87%), *Physocephalus sexalatus* (6%), *Ascaris suum* (2%), *Metastrongylus* spp. (85%), *Capillaria* spp. (2%) e ainda *Macracanthorhynchus hirudinaceus* (21%). Este último não foi observado em crias com menos de um ano. A percentagem de animais parasitados foi de 98%. Foram também encontrados ovos de capilarídeos, não tendo sido no entanto identificada a espécie a que pertenciam (de-la-Muela, Hernández-de-

Luján & Ferre, 2001). Foi ainda efectuado um estudo para verificar as espécies de ixodídeos que parasitavam o javali em toda a Espanha. Dos 284 javalis amostrados, 142 foram positivos (31%). Foram encontradas 8 espécies de ixodídeos, nomeadamente, *Hyalomma marginatum marginatum* (68,7%), *Rhipicephalus bursa* (14,6%), *Dermacentor marginatus* (9,3%), *Rhipicephalus sanguineus* (2,5%), *Hyalomma lusitanicum* (1%), *Dermacentor reticulatus* (0,2%), *Ixodes ricinus* (0,1%), *Hyalomma anatolicum excavatum* (0,05%) e ainda um exemplar de uma sub-espécie africana, nomeadamente *Hyalomma marginatum rufipes* (Ruiz-Fons *et al.*, 2006).

Carriço Neves (2013) efectuou um estudo sobre parasitismo de suínos da raça Ibérica e javalis silvestres nas Comunidades Autónomas da Extremadura e Castilla y León. Para tal, efectuou colheitas *post mortem* em montarias de amostras fecais, de pulmão e pilares do diafragma. Os parasitas de *Ascaris suum* apresentaram uma prevalência de 0,43% em javalis jovens, 12,2% em adultos e 0% em animais com idade indeterminada. *Balantidium coli* apresentava-se em 78,3% das amostras de javalis jovens, 85,4% dos adultos e 0% em animais com idade indeterminada. Os oocistos da família Eimeriidae encontravam-se presentes em 26,1% das amostras de jovens javalis, 1,5% dos adultos e 92,9% de animais de idade indeterminada. Os ovos de *Metastrongylus* spp. foram observados em 0,87% das amostras de javalis jovens, 0,98% de adultos e 0,7% de animais de idade indeterminada. Os ovos de tipo estrongilídeo foram observados em 34,8% das amostras de javalis jovens, 29,3% dos adultos e 0,7% dos animais de idade indeterminada. Os ovos do parasita *Macracanthorhynchus hirudinaceus* foram observados em 13% das amostras de animais jovens, 0,24% de adultos e 0,7% de animais de idade indeterminada. Os ovos de *Trichuris suis* foram observados em 26,1% das amostras de javalis jovens, 0,73% de javalis adultos e 0,7% de javalis de idade indeterminada. Este autor efectuou ainda análise dos pulmões, tendo recolhido *Metastrongylus* spp. de 62,5% dos pulmões avaliados. Foram observadas três espécies de *Metastrongylus* diferentes, sendo a mais prevalente o *Metastrongylus apri* (100% dos animais positivos), seguindo-se *Metastrongylus pudendotectus* (80% dos animais positivos) e por fim *Metastrongylus salmi* (53,3% dos animais positivos). A pesquisa de *Trichinella* spp. demonstrou ser negativa em todas as amostras (Carriço Neves, 2013).

2.2.6 Parasitas do Javali em Portugal

No trabalho realizado por Bruno de Sousa (2001), verificou-se que 66,6% (10/15) dos javalis apresentavam formas adultas de *Fasciola hepatica* no fígado. Relativamente aos parasitas pulmonares, 63,6% apresentavam nemátodes pulmonares das espécies *Metastrongylus apri* e *Metastrongylus salmi*. Foi encontrado ainda um céstode da espécie *Cysticercus tenuicollis*, numa prevalência de 6,7%. Noutro estudo também realizado na Tapada Nacional de Mafra, descobriu-se *Globocephalus urusobulatus* (62,5%), *Ascarops strongylina* (12,5%), *Trichuris suis* (12,5%), *Oesophagostomum dentatum* (25%), *Metastrongylus* spp. (42,1%) e *Fasciola*

hepatica (60,9%) (Bruno de Sousa, Madeira de Carvalho, Fazendeiro, Castro Rego, & Afonso-Roque, 2004).

Foi efectuado em 2009 um estudo abrangente em que foram estudados javalis do Nordeste transmontano, Alto Douro, concelho da Lousã e Companhia das Lezírias, num total de 121 animais. Estas amostras foram processadas para pesquisa de *Trichinella* spp. sendo todas as análises negativas. Na coprologia realizada em 100 amostras de fezes, detectou-se *Eimeria* spp. (2%), *Ascaris* spp. (1%), *Trichuris* spp. (1%) e *Metastrongylus* spp. (9%) usando a técnica de McMaster. Na técnica de flutuação onde foram processadas 61 amostras, obtiveram-se ovos de *Ascaris* spp. (1%), *Trichuris* spp. (2%) e *Metastrongylus* spp. (5%). A pesquisa usando a técnica de Baerman foi negativa em todas as amostras (Calado, 2009).

Em 2009, Gião Gomes efectuou um estudo em 24 explorações de carácter extensivo de produção de suínos da raça Alentejana, onde o contacto com javalis silvestres era constante, havendo por isso uma grande transmissibilidade dos parasitas encontrados entre as duas espécies. Desta forma, através de análises efectuadas a amostras fecais, foi verificado a infecção conjunta por protozoários e nemátodes em 79% das explorações, infecção unicamente por protozoários em 17% das explorações e infecção unicamente por nemátodes em 4% das explorações, não existindo nenhuma exploração livre de parasitas. Os parasitas mais prevalentes foram *Oesophagostomum* spp./ *Hyoststrongylus rubidus* e *Eimeria* spp. que se encontravam presentes em 79% das explorações. Segue-se o *Balantidium coli* (67%), *Isospora suis* (58%), *Globocephalus urosubulatus* (42%), *Metastrongylus* spp. e *Strongyloides ransomi* (29%), *Physocephalus sexalatus* e *Ascaris suum* (25%), *Trichuris suis* (17%) e por fim, *Trichostrongylus* spp. (4%).

2.3 Objectivos

Este estudo visou atingir alguns objectivos que serão enunciados neste capítulo, nomeadamente:

1. Obter um maior conhecimento em relação à fauna parasitária que afecta os ungulados silvestres em Portugal;
2. Ter uma perspectiva da evolução da relação parasita-hospedeiro nos ungulados silvestres da TNM, dez anos após a realização do último estudo, e tendo em conta o grande incêndio ocorrido em 2003 que destruiu grande área da TNM;
3. Utilizar diversas populações com situações geográficas e geoclimáticas variadas dentro da TNM, para compreender se estes factores fazem variar a quantificação e qualificação dos parasitas presentes;
4. Conseguir obter uma perspectiva real da dinâmica parasitária (gastrointestinal, hepática e pulmonar) no período de um ano através da sua quantificação;
5. Utilização de um novo método de quantificação de OPG de *Fasciola hepatica* (McMaster Modificado) para obter um melhor entendimento desta parasitose nos ungulados silvestres da TNM e também para se conseguir entender se ocorreu um crescimento da presença deste parasita, ou se por outro lado, existiu estagnação ou decréscimo;
6. Identificação dos endo e ectoparasitas que afectam os ungulados silvestres da TNM através da sua recolha *post-mortem* utilizando para tal os animais abatidos em acto venatório;
7. Transmitir à TNM as conclusões deste estudo para que a instituição, na posse destes dados, possa determinar as medidas sanitárias a adoptar para manutenção do bom estado sanitário das suas populações de ungulados silvestres;
8. Auxiliar a comunidade científica nacional e internacional no conhecimento das parasitoses da fauna silvestre, nomeadamente, os ungulados de interesse cinegético, para que no futuro possa ser efectuado um melhor controlo destas parasitoses;

3. Material e Métodos

O trabalho de campo foi dividido em duas vertentes, sendo elas, a colheita mensal de fezes nas populações seleccionadas e as necrópsias dos animais caçados na época venatória 2011/2012.

3.1 Populações

A população de veado na TNM, segundo os censos de 2011 era de 28 animais e a população de gamo era de 226 animais. A divisão por sexo e adultos/crias pode ser observada na Tabela 1. Não são realizados censos para a população de javali devido às suas características de transumância e por estes se dissimularem bastante bem na vegetação (Carrilho & Sá, comunicação pessoal).

Tabela 1 – Censos da População de veado e de gamo na TNM em 2011

Espécie	Machos	Fêmeas	Crias	Total
Gamo (<i>Cervus dama</i>)	87	86	43	226
Veado (<i>Cervus elaphus</i>)	16	7	5	28

Foram utilizados vários critérios para a selecção das populações, o que levou à escolha de uma população de veado, sete populações de gamo e três populações de javali.

O objectivo deste estudo era abranger pelo menos 10% da população de gamo, visto ser a maior e 20% da população de veado. Quanto à população de javali não se poderia atingir uma percentagem, porque o número de animais existentes não é conhecido.

O primeiro critério de selecção tido em conta para a escolha das populações incluídas no estudo e que servia de critério de eliminação foi o número de animais presente no local escolhido, devendo o mesmo ser superior a dez. Além disso, pesou nesta escolha o facto de a população ser estável em número. Pode-se observar a localização geográfica das populações seleccionadas na figura 5.

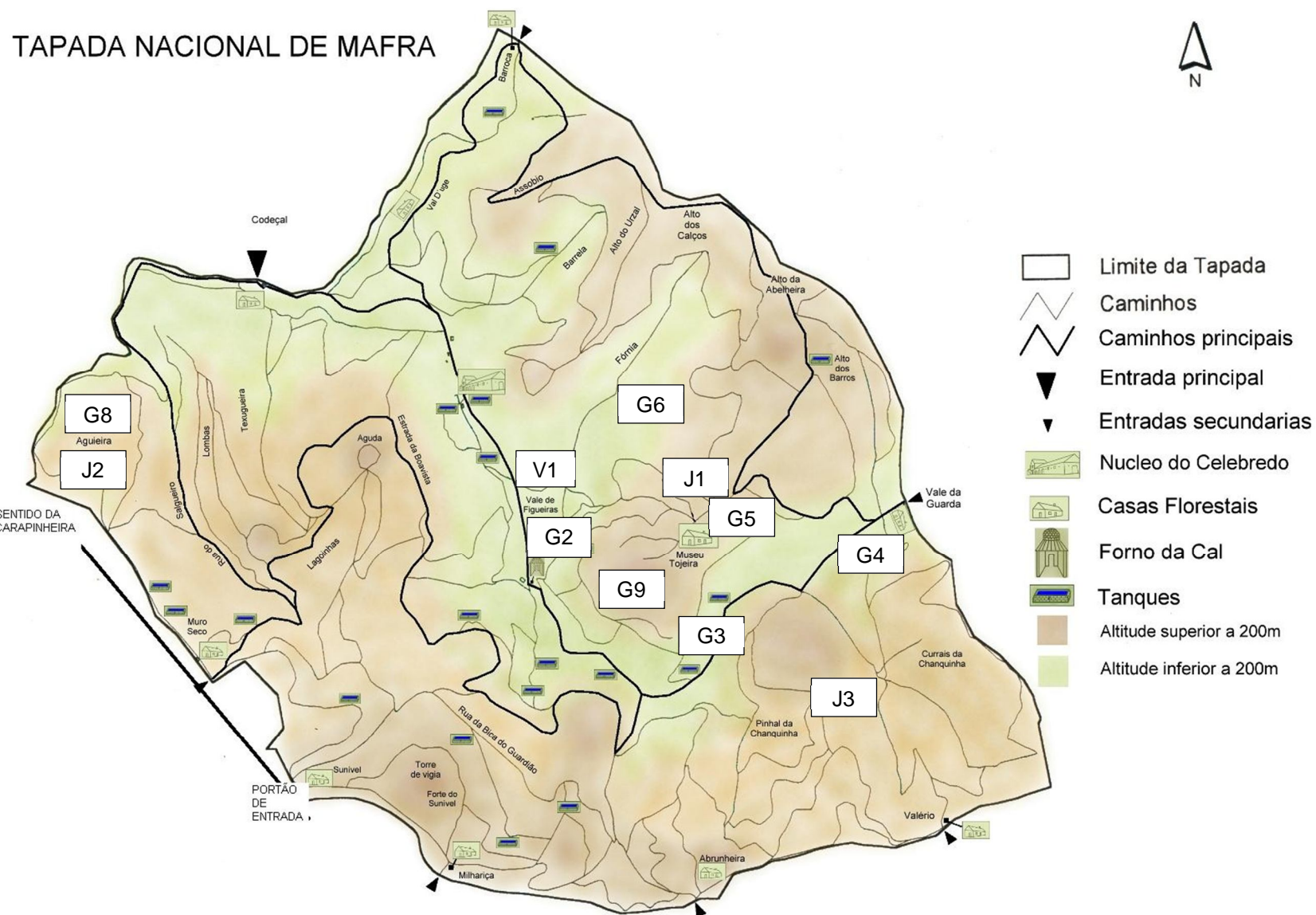
Tendo em conta o primeiro critério de escolha, apenas uma população de veado satisfazia as exigências, que era a que se encontrava confinada ao cercado de repovoamento no Vale Figueira. Esta população era constituída inicialmente por 15 animais, tendo sido reduzida ao longo do tempo devido às libertações de fêmeas para repovoamento exterior do cercado. Desta forma conseguiu-se sempre representar entre 40 a 50% da população de veado.

A população de Gamo 2 foi seleccionada uma vez que é um local com um comedouro e encontra-se no Vale Figueira. A população Gamo 3 situava-se junto à Fonte dos Álamos e foi seleccionada devido à presença de um local de abeberamento (tanque) e de alimentação

(comedouro). A população Gamo 4 situava-se no Vale da Guarda e corresponde aos mesmos critérios de escolha para o Gamo 2. O mesmo acontece para a população Gamo 5 e Javali 1, ambas situadas na Tojeira/ Abelheira. A população Gamo 6 foi seleccionada devido à presença de um local de alimentação (comedouro) e devido à presença de um local de abeberamento (charca). Os mesmos critérios foram utilizados para a população Gamo 8 e Javali 2, ambas situadas na Agueira. Além disso, estas duas populações foram seleccionadas por ser um local isolado, fora do circuito turístico e onde os animais muito raramente têm contacto com humanos. A população Gamo 9 foi seleccionada por ser o local preferencial de reprodução dos gamos. A população Javali 3 foi escolhida por estar mais afastada do circuito turístico, por ser um local de maior abundância de alimentos naturais e pela presença de um local de abeberamento (charca). Esta população corresponde ao território denominado como Currais da Chanquinha (Figura 5).

Na atribuição da identificação a cada uma das populações, decidiu-se agregar as populações de cervídeos, daí que exista a passagem de V1 para G2 sem existir uma população G1. A população G7 acabou por ser abandonada durante o período de estudo pela perigosidade que o local apresentava, tendo por isso sido suprimida dos dados do presente documento.

Figura 5 - Mapa da Tapada Nacional de Mafra com localização das populações estudadas (adaptado de TNM)



3.2 Colheita de Fezes

As fezes foram colhidas mensalmente para cada uma das populações. No caso dos gamos e dos veados, as colheitas foram efectuadas entre Outubro de 2011 e Outubro de 2012. Nos javalis, as colheitas foram realizadas entre Dezembro de 2012 e Agosto de 2012. Nas populações abrangidas pelo estudo, nem sempre se conseguiu recolher fezes em todos os meses. No caso dos javalis, a não recolha devia-se especialmente à ausência de fezes devido aos hábitos de transumância destes animais.

A identificação das fezes por espécie foi efectuada com base na descrição realizada por Brown e Pope (2009) (figura 6). Estes autores descrevem as fezes de javali como semelhantes a uma bola de rugby meio-cheia sendo encontrados pedaços de plantas, insectos, cascas e pequenos ossos. Nos veados as fezes são escuras e aderentes entre elas com 2 cm de comprimento. Nas fêmeas uma das extremidades é arredondada e a outra pontiaguda. Nos machos uma das extremidades é chata e a outra é pontiaguda. Nos gamos, as fezes são brilhantes pretas e cilíndricas. Tal como nos veados, nos gamos as fezes do macho são relativamente chatas numa das extremidades e pontiagudas na outra enquanto que nas fêmeas uma das extremidades é redonda e a outra é pontiaguda. O comprimento máximo é de 1,5 cm.

A colheita foi realizada com luvas para um saco devidamente identificado com o código da população e a data da colheita. Procurou-se que as fezes fossem sempre o mais recentes possível para evitar a sua conspurcação por nemátodes e ácaros de vida livre que dificultariam a interpretação de resultados. Sempre que as fezes eram demasiadas antigas, optou-se por não efectuar a sua recolha para não haver adulteração dos resultados devido à provável eclosão das larvas presentes nos ovos de *estrongilídeos* ou dos *miracídios* nos ovos de *Fasciola hepatica*. A colheita abrangeu todo o território da população de forma a garantir a maior representatividade possível. Após aquela, as fezes foram colocadas à temperatura de refrigeração até ao seu transporte para o laboratório.

Figura 6 - Fezes de gamo (à esquerda); Fezes de javali (à direita) (originais).

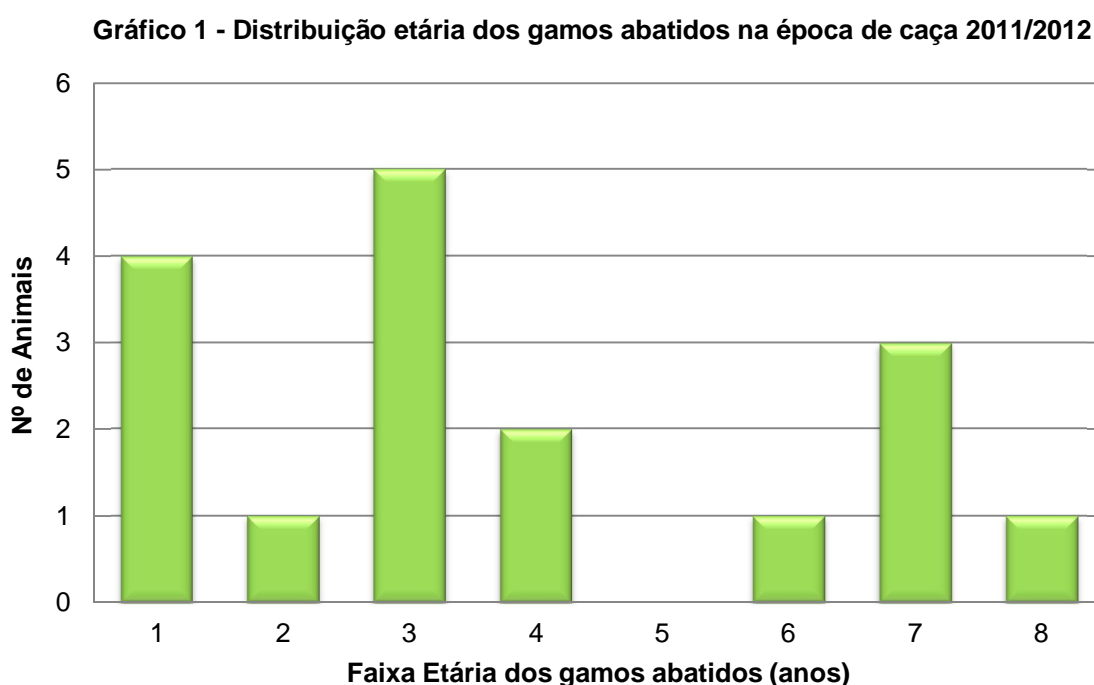


3.3 Actividade cinegética

Os animais abatidos na época venatória 2011/2012 foram alvo de necrópsia. Foram abatidos 17 gamos e 9 javalis. Inclui-se ainda a necrópsia de um veado, que no entanto não foi alvo de acto de caça, tendo sido encontrado morto.

Dos gamos abatidos, 11 eram machos e 6 eram fêmeas. A sua distribuição etária pode ser verificada no gráfico 1. Os javalis abatidos correspondiam a 2 fêmeas e 7 machos.

A avaliação etária dos animais foi realizada com a ajuda dos Guardas Florestais por observação das hastes no caso dos gamos machos e pelo desgaste dentário e tamanho corporal no caso das fêmeas. No caso dos javalis, não foi realizada a avaliação etária dos animais, tendo sido realizado apenas o registo do tamanho das navalhas externas (porção visível e externa aos lábios).



3.4 Necrópsia

Após o abate dos animais, os mesmos eram levados até à Casa da Esfola, onde eram pesados.

O hábito externo dos animais era avaliado para recolha de ectoparasitas. Sempre que foram recolhidos, os ectoparasitas foram colocados em frascos com álcool a 70% e devidamente identificados com o código do animal e data do abate.

Após a evisceração, foram separados os seguintes órgãos: coração, baço, rins, pulmões, estômago nos javalis e abomaso nos cervídeos, intestino delgado, intestino grosso e fígado. No caso dos cervídeos também se recolhia o rúmen.

O estômago, abomaso, intestino delgado e intestino grosso eram abertos e o seu conteúdo submetido a decantação simples em baldes e em tabuleiro para recolha de helmintes no local. O rúmen era aberto no local para pesquisa de helmintes.

O coração, baço, rins, pulmões e fígado foram acondicionados em sacos, devidamente identificados com o código do animal e data do abate, sendo de seguida colocado à temperatura de refrigeração, de forma a serem transportados até ao laboratório de Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa.

Os últimos 30 cm de intestino grosso e o recto foram abertos para colheita de fezes que foram devidamente acondicionadas em sacos de plástico, identificados com o código do animal e data do abate, sendo de seguida colocados em refrigeração para transporte para o laboratório.

No caso dos javalis, foi recolhido o diafragma, e sempre que possível a língua sendo ambos acondicionados e identificados como referido anteriormente, e sendo colocados em refrigeração para transporte para o laboratório.

Figura 7 – Pormenor de material utilizado na necrópsia dos animais abatidos em acto de caça
(original)



3.5 Trabalho Laboratorial

O trabalho laboratorial foi dividido em duas partes: o processamento de amostras de fezes, quer das colheitas mensais das populações, quer das fezes colhidas dos animais necropsiados, e o processamento dos órgãos recolhidos nas necrópsias dos animais abatidos no acto de caça. Quando o animal abatido era um javali, procedeu-se ainda à pesquisa de *Trichinella* spp. nos músculos recolhidos.

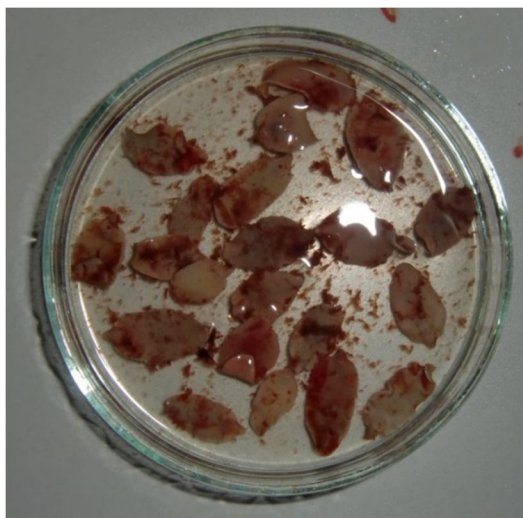
3.5.1 Processamento de órgãos

Os órgãos recolhidos dos animais abatidos no acto de caça foram colocados em tabuleiro e foram submetidos a medição do seu maior comprimento e a pesagem em balança analítica. De seguida, os pulmões e o fígado foram submetidos a abertura para pesquisa de helmintes adultos. Os pulmões foram abertos com enterótomo seguindo as vias respiratórias (traqueia e brônquios) enquanto o fígado foi aberto usando lâmina de bisturi, seguindo os canais biliares. Sempre que foram encontrados helmintes, estes foram colocados em placa de Petri com álcool a 70% para proceder à sua limpeza, antes de serem colocados em frascos com álcool a 70% devidamente identificados com o código do animal ao qual pertencia o órgão, a data do abate, o órgão de onde foram retirados os helmintes e o número de espécimes encontrados.

No caso dos pulmões, foram retirados pedaços dos lobos diafragmáticos com auxílio de enterótomo, utilizados para realizar a Técnica de Baerman.

Para uma correcta análise dos resultados, é necessário definir alguns conceitos importantes, nomeadamente, prevalência, intensidade, intensidade média e abundância média. Entende-se como prevalência o número de hospedeiros infectados com um ou mais espécimes de uma espécie ou género parasitário dividido pelo número de hospedeiros analisados para pesquisa desse parasita (Bush, Lafferty, Lotz, & Shostak, 1997). Intensidade representa o número de espécimes de um determinado parasita recuperados de um único hospedeiro infectado (Bush *et al.*, 1997). Tendo em conta este conceito de intensidade, entende-se por intensidade média, a média da intensidade de uma espécie de parasita entre todos os hospedeiros infectados por esse mesmo parasita (Bush *et al.*, 1997). Por abundância média entende-se o número total de espécimes recolhidos de uma espécie parasitária numa amostra específica de hospedeiros dividida pelo número total de hospedeiros analisados, quer infectados ou não infectados (Bush *et al.*, 1997).

Figura 8 - Espécimes de *Fasciola hepatica* retirados de fígado de gamo para uma placa de Petri (original)



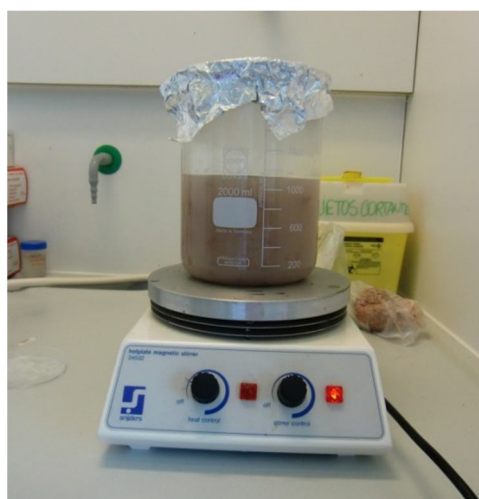
3.5.2 Pesquisa de *Trichinella* spp.

Aquando do abate de javalis no acto de caça, foram colhidos os músculos diafragmáticos bem como a língua (quando possível) para pesquisa de *Trichinella* spp.

Para pesquisa da larva deste nemátode foi utilizado o método considerado de referência pela Comissão Europeia [CE] (2005), nomeadamente o método de digestão péptica-ácida.

Inicialmente deixou-se a amostra iniciar o processo de putrefacção durante uma semana em temperatura de refrigeração (4°C). De seguida, a amostra era triturada e homogeneizada. Desse material, recolhiam-se 50 grama por animal, uma vez que se tratava de amostras individuais e não de amostras colectivas como o previsto na legislação. De seguida, foi realizado o procedimento para digestão e observação previsto na legislação (CE, 2005).

Figura 9 – Aspecto do processamento péptico-ácido do músculo (original)



3.5.3 Processamento de amostras fecais

3.5.3.1 Técnica de McMaster

A Técnica de McMaster é efectuada para que possa ser efectuada uma avaliação quantitativa do número de ovos presentes por grama de fezes (OPG). Para tal é utilizada uma câmara de McMaster, onde são observados os ovos aderentes à área de grelha, uma vez que na presença de uma solução concentrada, os ovos vão flutuar e aderir à lâmina superior (Madeira de Carvalho, 2001).

A técnica consiste na pesagem de 2 grama de fezes que são diluídos numa solução concentrada de açúcar (28 mililitros). Após uma boa dissolução das fezes, faz-se a passagem para um copo utilizando um filtro. Deste copo é retirada uma parte da suspensão para a câmara de McMaster. A observação é realizada em microscópio óptico, utilizando a objectiva de 10x, numa ampliação total de 100x (Madeira de Carvalho, 2001).

O número de ovos observado é multiplicado pelo factor 50, sendo obtido o número real de ovos por grama de fezes (OPG). Quando não se observa nenhum ovo, não pode ser afirmado que existem 0 OPG, uma vez que é necessário verificar se é um falso negativo ou

não, pela observação das lâminas da técnica de Willis e porque não é possível garantir a homogeneidade da amostra (Estação Zootécnica Nacional [EZN], 1989).

3.5.3.2 Método de Willis

Os ovos de parasitas apresentam uma gravidade específica superior a 1 pelo que a sua colocação em água provocaria a sua sedimentação. Para conseguir que estes flutuem é necessário utilizar uma solução concentrada. Utilizando as soluções concentradas conseguimos observar ovos de nemátodes, uma vez que estes têm uma gravidade específica inferior aos dos tremátodes. A solução concentrada neste caso foi uma solução saturada de açúcar, uma vez que permite maior tempo de observação sem deformações do que na utilização de uma solução de cloreto de sódio (Madeira de Carvalho, 2001).

Uma vez que esta é uma técnica qualitativa e não quantitativa, não é necessário efectuar pesagens exactas. Colocam-se cerca de 2 grama de fezes em cerca de 30 mililitros de solução concentrada de açúcar e mexe-se bem para realizar uma boa dissolução. De seguida, passa-se a suspensão por um filtro, para um tubo de ensaio. É colocada uma lamela no topo do tubo de ensaio e deixa-se repousar durante cerca de 20 minutos. Este tempo de espera permite que os ovos de nemátodes flutuem e se cole à face inferior da lamela. É retirada então a lamela, que é colocada sobre a lâmina e é observada ao microscópio óptico com a objectiva de 10x, numa ampliação total de 100x (EZN, 1989).

3.5.3.3 Sedimentação Simples

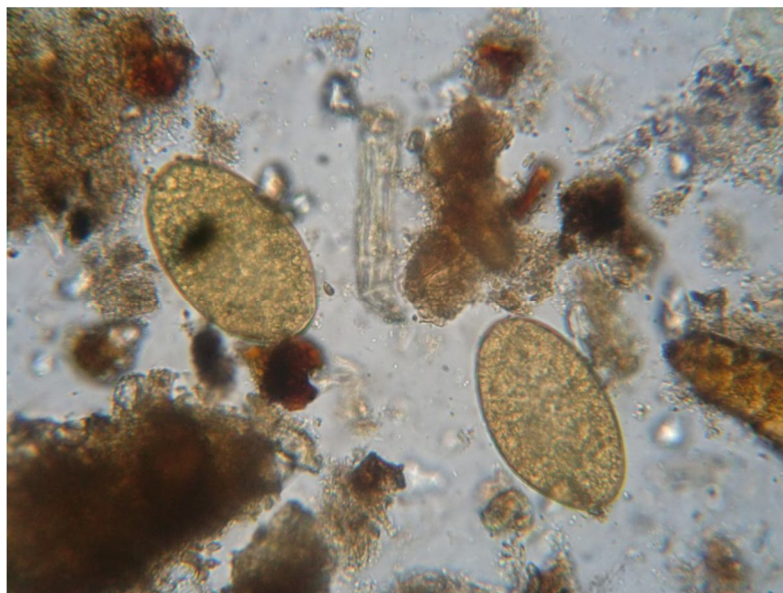
Os ovos de tremátodes apresentam uma gravidade específica superior aos ovos de nemátodes pelo que utilizando as soluções concentradas com uma gravidade específica igual ou inferior a 1,20, os ovos de tremátodes sedimentam. Realizam-se os mesmos passos que a técnica descrita anteriormente, até ao repouso no tubo de ensaio, aproveitando a realização das duas técnicas ao mesmo tempo. Após remoção da lamela, decanta-se removendo o sobrenadante. Colocam-se então duas gotas de azul de metileno sobre o sedimento e com uma pipeta de Pasteur mistura-se bem os dois componentes. O azul de metileno cora todos os detritos e componentes fecais de azul, excepto os ovos que irão contrastar uma vez que as suas paredes não absorvem o corante, desde que se encontrem íntegras manterão uma coloração amarela. De seguida remove-se uma pequena quantidade, coloca-se entre lâmina e lamela e observa-se com a objectiva de 10x, numa ampliação total de 100x (EZN, 1989).

3.5.3.4 McMaster Modificado

Para quantificação do número de OPG de *Fasciola hepatica* foi utilizada a técnica de McMaster modificado, uma vez que apresenta uma sensibilidade de 100% para contagem de OPG superiores a 1,5 OPG e de 33,3% para contagens inferiores a 1,5 OPG (Conceição, Durão, Costa, Correia da Costa, 2002).

Para poder efectuar a contagem, é necessário misturar 10 g de fezes com 60 ml de uma solução detergente a 5% que melhora a desagregação das fezes por diminuição da tensão de superfície. De seguida, o conteúdo é filtrado através de um passador e de uma gaze para um copo cónico de 1000 ml. Completa-se o volume com água até perfazer 1000 ml e deixa-se sedimentar durante 10 minutos. De seguida retira-se o sobrenadante. Enche-se novamente com água até perfazer o volume de 1000 ml. Repete-se este ciclo até que o sobrenadante se encontre translúcido e transparente. Na última decantação, recolhe-se o sedimento para um copo de 50 ml e completa-se o volume. Por fim suspende-se o conteúdo e com uma pipeta de Pasteur retira-se o conteúdo necessário para que se preencham duas câmaras de McMaster. O último passo consiste na observação com a objectiva de 10x do fundo da câmara para realizar a contagem de ovos de *Fasciola hepatica* (Figura 10). Caso não se observe um único ovo em 4 câmaras, deve-se pesquisar em 8. Só após ser negativo em 8 câmaras é que se considera a amostra como negativa (Conceição *et al.*, 2002).

Figura 10 – Dois ovos de *Fasciola hepatica* usando a técnica de McMaster modificada (100x) (original)



3.5.3.5 Coprocultura em Copo

A técnica de coprocultura em copo permite fazer eclosão dos ovos que se encontram nas fezes e cria as condições para o desenvolvimento das larvas dos parasitas até à sua fase infectante (L3). Para tal é necessário garantir três condições essenciais para o

desenvolvimento larvar, nomeadamente, oxigenação, humidade e temperatura (Madeira de Carvalho, 2001).

Neste sentido, coloca-se uma quantidade de fezes que deve preencher o copo. Sendo necessário pesar a amostra de fezes uma vez que é uma técnica quantitativa e qualitativa. Deve-se criar um orifício com uma vareta no centro para melhorar a oxigenação. Coloca-se uma folha de alumínio sobre a abertura do copo e fazem-se pequenos furos para permitir a entrada de ar. De seguida coloca-se num tabuleiro, parcialmente preenchido com água para garantir que no ambiente de estufa exista humidade. Coloca-se então numa estufa a 26°C ou 27°C durante 15 dias para garantir o tempo necessário para o desenvolvimento larvar até ao estágio de L3. No final do tempo de incubação, retira-se o copo da estufa e a folha de alumínio e preenche-se o conteúdo do copo com água. Coloca-se então uma placa de Petri na abertura do copo e vira-se. Preenche-se a placa de Petri com água e deixa-se repousar durante 24 horas. Devido ao higrotropismo e fototropismo positivos as larvas migram para a água na placa de Petri que rodeia a abertura do copo. Ao final das 24 horas, recolhe-se para um tubo de ensaio e deixa-se repousar (Madeira de Carvalho, 2001).

Após o repouso observa-se o sobrenadante, para decidir qual o volume de sobrenadante que se mantém que poderá ser de 1; 2,5; 5 ou 10 ml, de forma a se conseguir fazer os cálculos finais. De seguida, agita-se levemente para permitir a dispersão das larvas L3 no sobrenadante. Retira-se uma pequena quantidade com pipeta de Pasteur e coloca-se entre lâmina e lamela. Para acelerar a morte das L3 pode-se utilizar soluto de Lugol. Faz-se a observação ao microscópio numa ampliação de 4x e 10x fazendo a contagem das larvas e a identificação utilizando uma chave dicotómica. Deve-se fazer a contagem de 100 larvas ou até esgotar o conteúdo do tubo caso sejam menos de 100 (EZN, 1989; Madeira de Carvalho, 2001).

Uma vez que não existem chaves dicotómicas de identificação de L3 de ungulados silvestres, foram utilizadas várias referências bibliográficas para melhorar a capacidade de identificação das L3 presentes nas coproculturas realizadas neste estudo. Para efectuar esta identificação foram tidos em conta vários factores, nomeadamente, o comprimento total da L3, o formato da extremidade anterior, o comprimento da bainha na extremidade posterior e o número de células intestinais (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food [MAFF], 1986; Afonso-Roque, 1989; Bruno de Sousa, 2001; Gibbons, Jacobs, Fox & Hansen, 2011).

3.5.3.6 Baerman

A técnica de Baerman destina-se a recolher larvas no estágio L1 de parasitas pulmonares. Esta utiliza o princípio de que as larvas não conseguem deslocar-se contra a gravidade acabando por ser sedimentar no fundo do dispositivo utilizado.

Para isso coloca-se uma quantidade de fezes que deve ter entre 5 a 15 grama envoltas em gaze. Ao contrário do referido por Bowmam (2009), no presente estudo esta gaze foi colocada num copo cónico com água e não num funil de torneira com água. Tal como o autor sugere, as amostras foram deixadas a repousar durante o período da noite e foram recolhidas sensivelmente 24 horas após colocação em água. Retirou-se o sobrenadante e colocou-se o sedimento em tubo de ensaio identificado, preenchendo com água. Para identificação foram recolhidas pequenas amostras com auxílio da pipeta de Pasteur, colocadas entre lâmina e lamela e observadas ao microscópio óptico numa ampliação total de 100x ou 400x.

A chave dicotómica utilizada para identificação das larvas L1 dos cervídeos foi a existente para pequenos ruminantes (Neto, 1996; Gibbons *et al.*, 2011).

No caso dos javalis, a utilização da técnica como descrita anteriormente criava uma grande quantidade de sedimentos que cobria todo o campo de visualização não permitindo a identificação dos ovos de *Metastrongylus*. Para contornar este problema, a amostra recolhida no tubo de ensaio foi passada por um sistema de 6 crivos (malhas de 500 µm, 250 µm, 125 µm, 100 µm, 63 µm e 20 µm) e lavada de forma a separar os sedimentos dos ovos. Uma vez que a dimensão dos ovos de *Metastrongylus* ronda os 50x40 µm, estes ficam retidos no último crivo (Foreyt, 2001). De seguida, recolheu-se do crivo que retinha os ovos o conteúdo para um tubo de ensaio e realizavam-se os passos anteriormente descritos para visualização. Desta forma, o campo encontrava-se pouco conspurcado e permitia a visualização mais facilitada dos ovos de *Metastrongylus* com a L1.

3.5.3.7 Pesquisa de *Cryptosporidium*

Para efectuar a pesquisa deste protozoário, foi necessário efectuar um esfregaço fecal. Colocou-se uma gota de água sobre a lâmina. De seguida, retirou-se um pequeno pedaço da amostra fecal, e com uma vareta fez-se a dispersão das fezes na lâmina para que a amostra ficasse o mais fina possível. De seguida, deixou-se repousar até secar. Uma vez que *Cryptosporidium* spp. é um parasita álcool-ácido resistente, de seguida efectuou-se uma coloração de Ziehl Neilsen. Para isso, utilizou-se uma adaptação do método de Casemore, Armstrong & Sands (1985) em que se coloca metanol durante um minuto, seguido de 10 minutos de fucsina. Após lavagem, colocava-se álcool clorídrico a 1% seguido de nova lavagem. Por fim cora-se com verde malaquite durante cerca de um minuto e fez-se nova lavagem, deixando depois a lâmina secar. Desta forma, garantiu-se que parasitas álcool-ácido resistentes permaneceriam no esfregaço, tal como, *Cryptosporidium*. Poderiam ainda ser observados outros géneros como *Giardia*. Para efectuar a observação era necessário utilizar a objectiva de imersão e obter uma ampliação total de 1000x.

3.5.4 Pesquisa de Ixodídeos

Nos animais abatidos foi efectuada a pesquisa de ixodídeos em todo o hábito externo. Sempre que estes foram observados, foi registado o grau de infestação dos animais, sendo a sua classificação efectuada de 1 até 3, sendo 1 uma infestação ligeira e 3 uma infestação grave. Por grau 1 entende-se um animal que apresenta no seu hábito externo 10 ou menos ixodídeos. Por grau 2 entende-se um animal que apresenta no seu hábito externo entre 11 a 30 ixodídeos. Por grau 3 entende-se um animal que apresenta no seu hábito externo mais de 31 ixodídeos. Após classificação do grau de infestação, foram recolhidos os ixodídeos manualmente para frascos com álcool a 70°, previamente etiquetados com os dados necessários para identificação. De seguida foram levados para o laboratório de Parasitologia da Faculdade de Medicina Veterinária onde foram identificados.

Para a sua identificação colocaram-se os ixodídeos sobre pedaços de plasticina numa placa de Petri para a sua fixação. Estes foram observados ao microscópio estereoscópico, e identificado o género (Bowman, 2009). Após identificação do género, foi avaliada a espécie (Walker, *et al.*, 2003).

3.5.5 Análise Estatística

A estatística efectuada foi análise descritiva, tendo sido calculadas algumas funções aritméticas, nomeadamente a média, desvio padrão e cálculo de percentagem.

Para tal foi utilizado o programa Microsoft Excel®, versão Microsoft Office 2010®.

4. Resultados

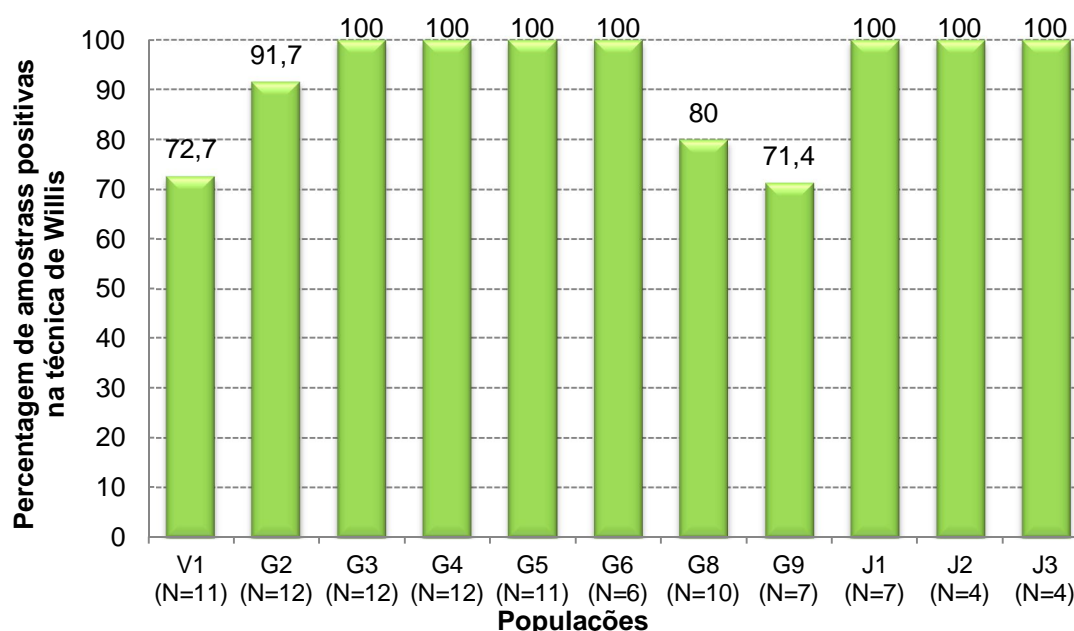
4.1 Parasitas observados nas diferentes populações animais estudadas

4.1.1 Parasitas Gastrointestinais

Usando as técnicas de coprologia (Willis, McMaster e Coprocultura) verificou-se que todas as populações estudadas, quer de cervídeos, quer de javalis apresentavam parasitas.

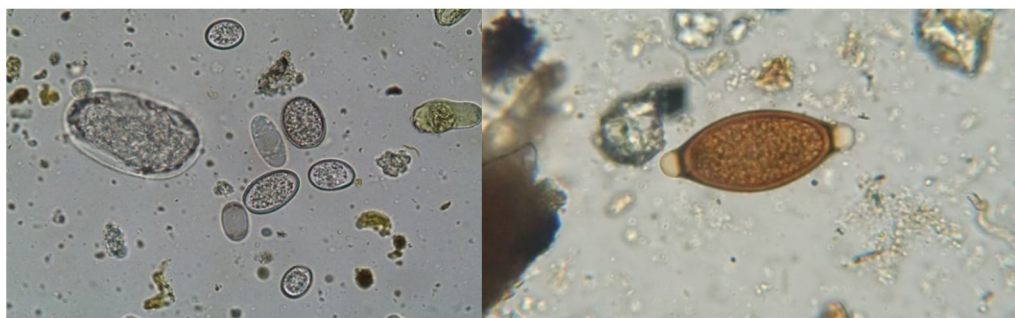
Usando a técnica de Willis observou-se que a percentagem de amostras ao longo do ano que apresentavam presença de ovos de estrongilídeos gastrointestinais foi sempre superior a 70% no caso dos cervídeos e de 100% em todas as populações de javalis analisadas (gráfico 2). É de referir no entanto que a percentagem foi de 100% em quatro das oito populações analisadas de cervídeos, todas constituídas por gamos.

Gráfico 2 – Percentagem de amostras positivas através da técnica de Willis nas populações estudadas.



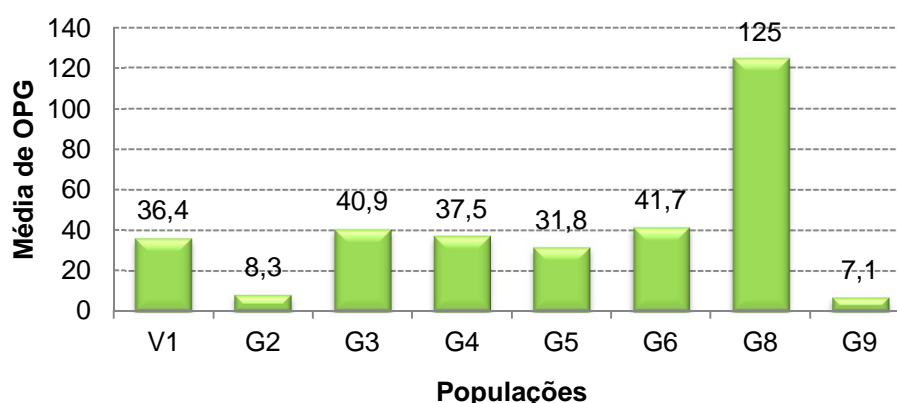
Importa referir que foram observados ovos de *Trichuris* spp. em três populações (Veado 1, Javali 1 e Javali 3), bem como oocistos abundantes em amostras das três populações de javali analisadas (figura 11).

Figura 11 - Oocistos não esporulados junto a ovo tipo estrongilídeo (400x) (à esquerda); Ovo de *Trichuris* sp. observado em flutuação de fezes de javali (400x) (à direita) (originais)



A técnica de McMaster permitiu quantificar a eliminação de ovos de tipo estrongilídeo durante todo o período do estudo. Pôde-se observar uma constância nos resultados em todas as populações de cervídeos, uma vez que os valores variaram normalmente entre 0 e 100 OPG. As exceções foram verificadas nas populações Gamo 3 (200 OPG em Setembro de 2012) e no Gamo 8 (900 OPG em Outubro de 2011 e 150 OPG em Setembro de 2012). Desta forma a média de OPG para as populações manteve-se abaixo dos 50 OPG, excepto para a população Gamo 8 que foi de 125 OPG (gráfico 3). De referir, que na população Veado 1, durante três meses os ovos encontrados no McMaster foram de tricurídeos. O mesmo se verificou na população Gamo 5 em Janeiro de 2012.

Gráfico 3 – Média de OPG (técnica de McMaster) das populações estudadas de cervídeos



No caso dos javalis, a eliminação de ovos de estrongilídeos foi quase sempre muito elevada, sendo o valor mais baixo registado para estas populações de 150 OPG no Javali 1 em Fevereiro de 2012, 100 OPG no Javali 2 e Javali 3 em Março de 2012 e Fevereiro de 2012, respectivamente. A média de OPG observada para as três populações foi de 4242,9 OPG no Javali 1, de 1487,5 OPG no Javali 2 e de 1512,5 OPG no Javali 3. É importante ainda assinalar que foram observados no McMaster oocistos não esporulados do género *Eimeria* em 46,7% das amostras analisadas de javali.

A técnica de Coprocultura em copo permitiu identificar as espécies de nemátodes gastrointestinais presentes nas diferentes populações através das larvas L3, assim com a sua quantificação.

Tanto na população de veados como nas populações de gamos, as espécies identificadas foram duas, nomeadamente, L3 do género *Oesophagostomum* e género *Ostertagia*. Nos javalis também foram dois os tipos de larvas identificados, nomeadamente, L3 de *Oesophagostomum* e de *Hyostrongylus*.

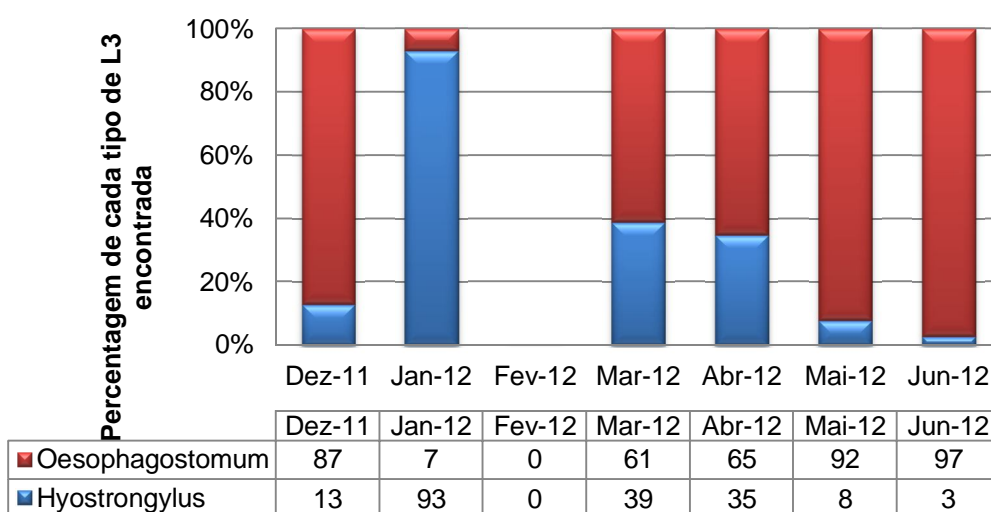
Nas populações de gamos existia um predomínio percentual das larvas de *Ostertagia* excepto nos meses de Verão (Junho, Julho, Agosto e em algumas populações em Setembro também), em que existiu um aumento percentual de larvas de *Oesophagostomum*. Na população de veados, ao longo do período do estudo verificou-se sempre um predomínio repartido entre as L3 de *Oesophagostomum* e *Ostertagia*. As contagens existentes foram

quase sempre muito baixas, e representam apenas cinco meses do estudo, uma vez que nos restantes meses não foi observada uma única larva L3.

No caso dos javalis, é de referir que foi difícil de tirar dados quer da população J2 quer da J3, uma vez que se conseguiu colher fezes apenas em quatro meses nas duas populações. No entanto, consegue-se perceber que na Javali 2 existe num mês a predominância de L3 de *Hyostrongylus* e nos outros dois meses a predominância de *Oesophagostomum*, Já na J3, existe uma predominância de *Hyostrongylus* nos meses de Novembro, Dezembro e Janeiro, enquanto no mês de Março há uma predominância das L3 de *Oesophagostomum*. Na população J1 verificou-se um predomínio do *Oesophagostomum*, ao longo do período do estudo, havendo no entanto no mês de Janeiro um predomínio das larvas de *Hyostrongylus*, que vai diminuindo até Maio, mês em que esta L3 já representa menos de 10% do total. De referir que em Março e Abril, o predomínio já é das L3 de *Oesophagostomum*, mas a percentagem de *Hyostrongylus* ainda ronda os 35-40% (Gráfico 4).

Relativamente às populações J1 e J3, também podemos verificar que quer as L3 de *Oesophagostomum* como as de *Hyostrongylus* foram isoladas em todas as datas de colheita. O mesmo não se verificou na população J2, uma vez que numa das colheitas se observaram apenas L3 de *Oesophagostomum*.

Gráfico 4 – Proporção de L3 encontradas na população J1



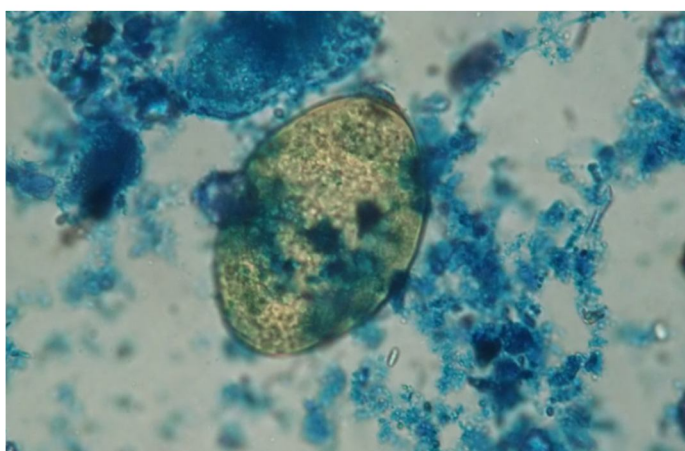
4.1.2 Género *Cryptosporidium*

Os protozoários de *Cryptosporidium* sp. foram identificados apenas em duas amostras de fezes, nomeadamente na população Veado 1 em Janeiro de 2012 e na população Gamo 3 em Maio de 2012, sendo a percentagem em cada uma das populações de 9,1% positivos no período abrangido pelo estudo. Para as restantes populações todas as amostras foram negativas. No total de todas as amostras observadas, a percentagem de positivos é de 2,5%. De referir ainda que as lâminas positivas apresentavam muito poucos oocistos.

4.1.3 Parasitas Hepáticos

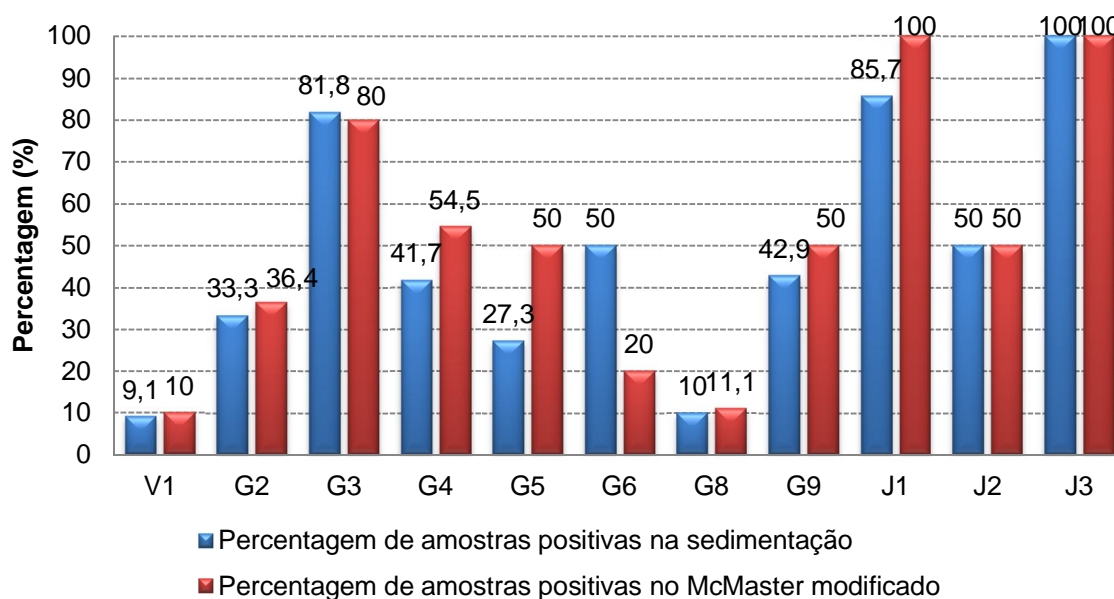
Usando a técnica de Sedimentação simples (Figura 12), verificou-se que a eliminação de ovos de *Fasciola hepatica* ao longo do ano é muito oscilante conforme a população em causa. No caso da população de veado estudada, e sendo esta uma população mantida num cercado sem acesso fácil aos hospedeiros intermediários, apresentou ovos deste parasita apenas na primeira amostra. Todas as restantes foram negativas. No caso das populações de gamos, a maioria (5/7 populações) apresentou menos de metade das amostras positivas como foi o caso da Gamo 2 (33,3%), Gamo 4 (41,7%), Gamo 5 (27,3%), Gamo 8 (10%) e Gamo 9 (42,9%). No caso das populações de javalis, todas apresentaram pelo menos 50% das amostras positivas.

Figura 12 – Ovo de *Fasciola hepatica* usando a técnica de sedimentação simples (100x) (original)



A técnica de McMaster modificado revelou resultados algo superiores em 7 das 11 populações estudadas, igual em duas populações e inferior em outras duas em comparação com a técnica de sedimentação simples (gráfico 5).

Gráfico 5 – Comparação entre a técnica de Sedimentação simples e McMaster modificado na prevalência de *F. hepatica* nas diversas populações de ungulados da TNM



No entanto, o grande objectivo do uso desta técnica era quantificar a eliminação de ovos de *Fasciola hepatica*, e verificar se existia um padrão de eliminação ao longo do período do estudo. O nível de OPG foi reduzido nos cervídeos, salvo algumas excepções. No entanto, em duas populações de javali (Javali 1 e Javali 3) verificaram-se níveis de eliminação de ovos elevados em alguns dos meses do estudo (Gráfico 6 a 16).

Nas populações em que a recolha foi consistente durante o período do estudo, não houve uma consistência nos meses de maior eliminação de ovos nas fezes, no entanto verificou-se que os valores mais elevados se encontram no período que medeia entre Dezembro de 2011 e Março de 2012 para os cervídeos. No caso dos javalis, apenas se verificaram eliminações mais acentuadas nas populações Javali 1 e Javali 3 em todos os meses nos quais foram recolhidas fezes, excepto o mês de Fevereiro.

Gráfico 7 – Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população V1 durante o período do estudo

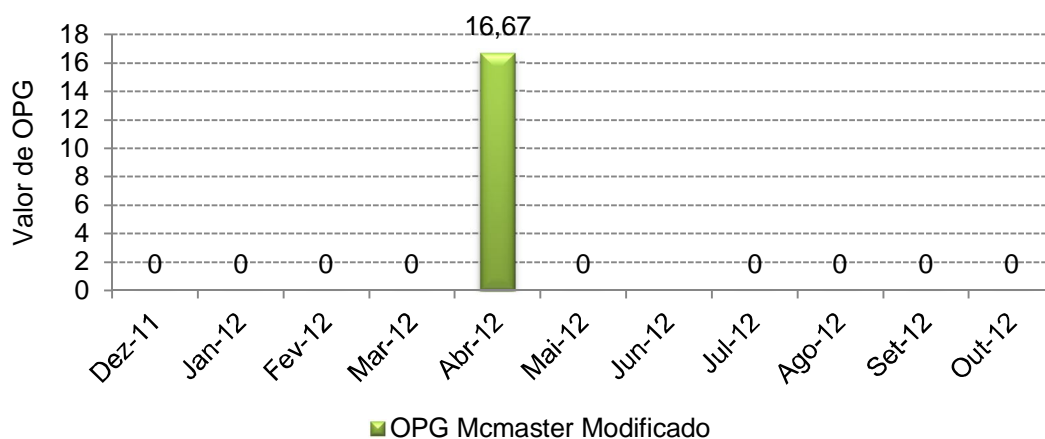


Gráfico 6 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população G2 durante o período do estudo

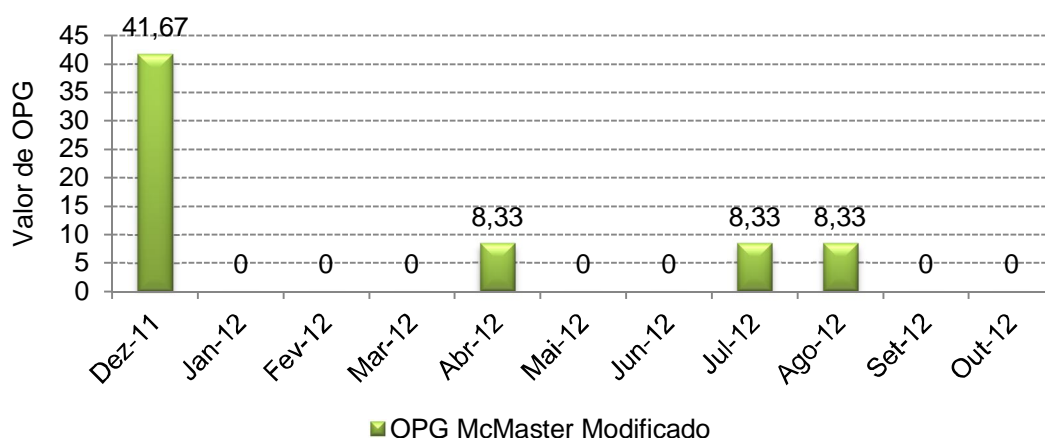


Gráfico 9 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população G3 durante o período do estudo

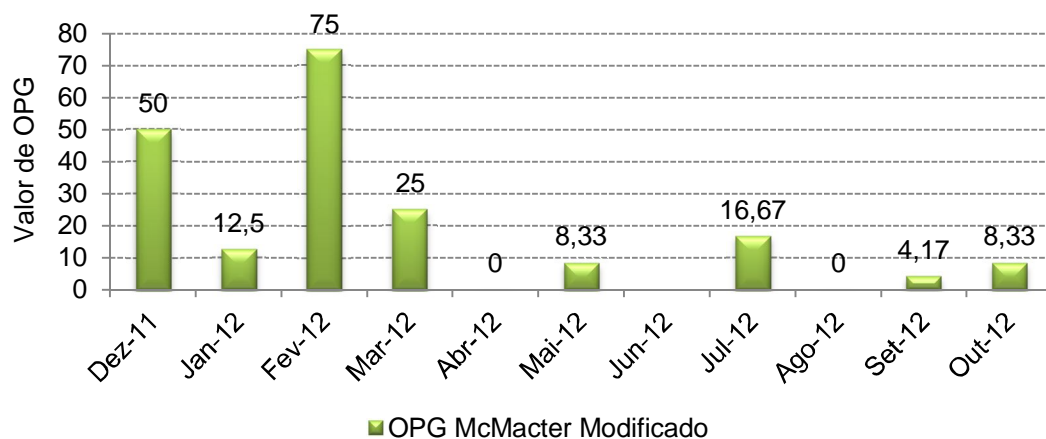


Gráfico 10 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população G4 durante o período do estudo

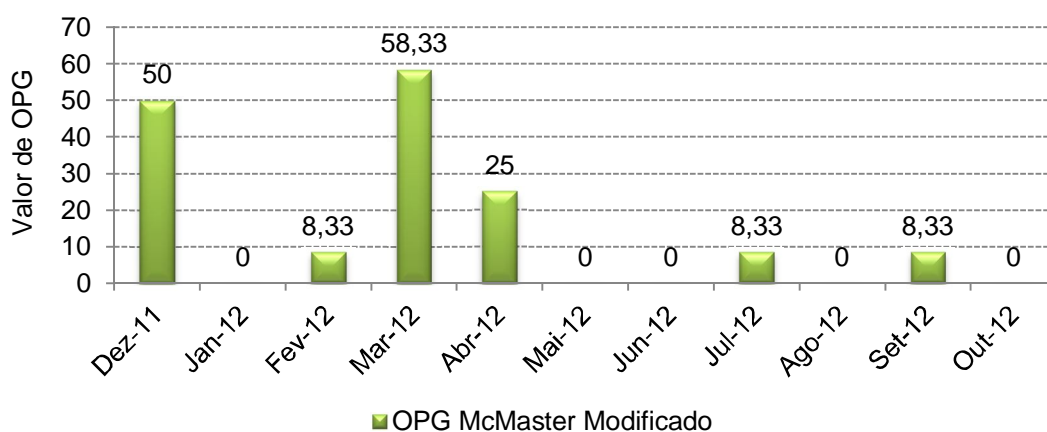


Gráfico 8 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população G5 durante o período do estudo

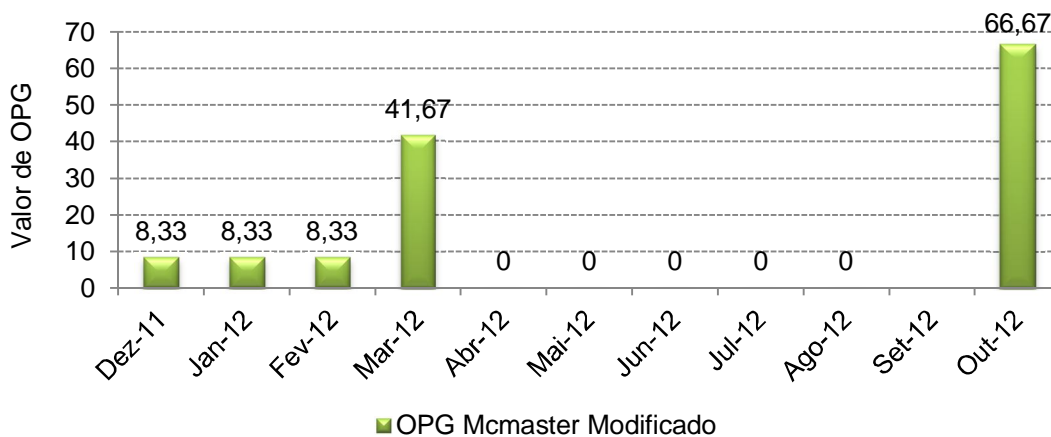


Gráfico 11 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população G6 durante o período do estudo

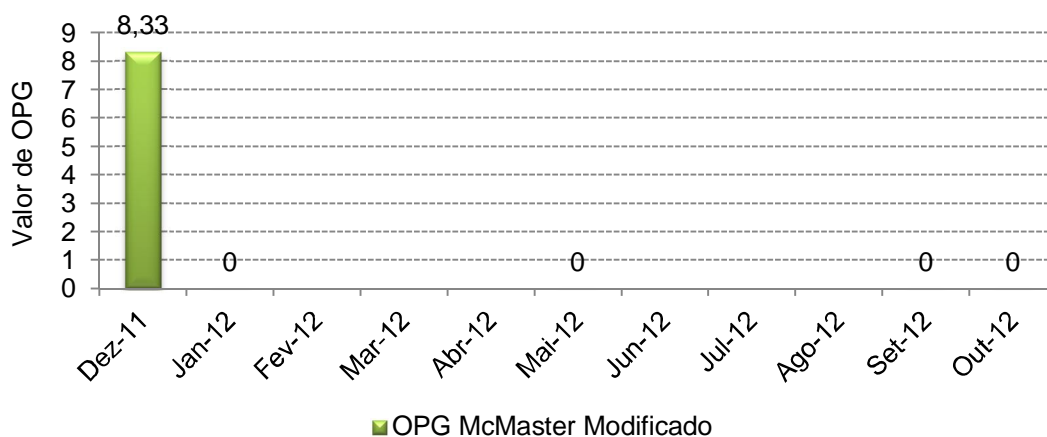


Gráfico 13 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população G8 durante o período do estudo

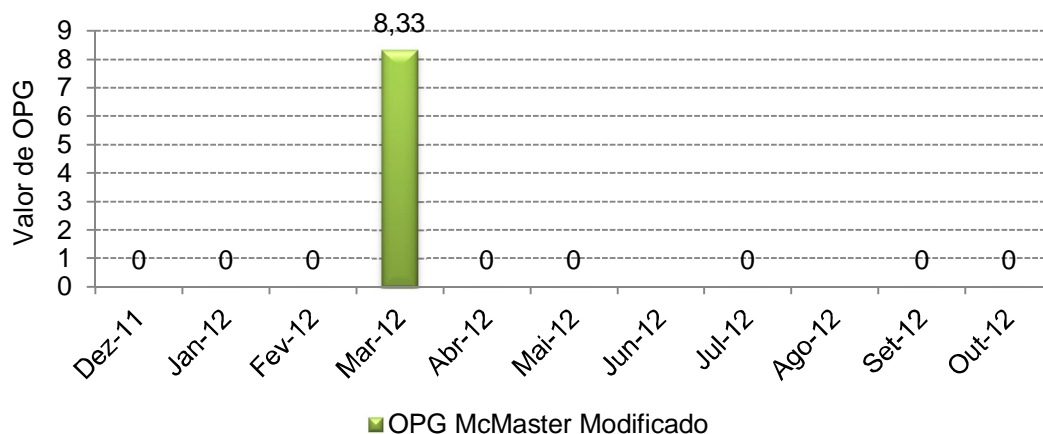


Gráfico 12 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população G9 durante o período do estudo

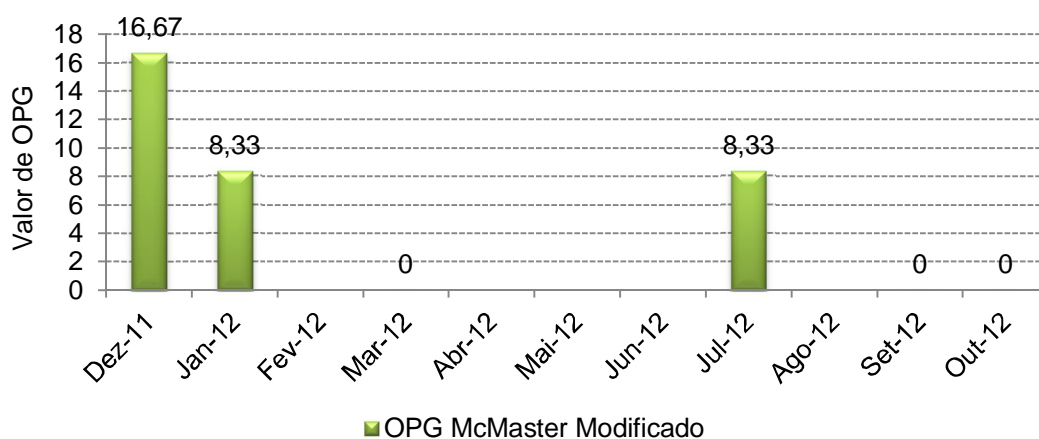


Gráfico 14 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população J1 durante o período do estudo

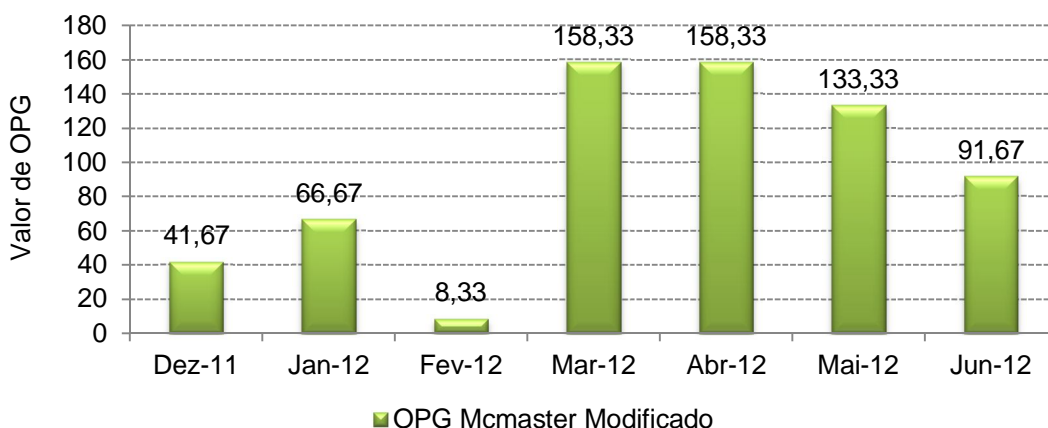


Gráfico 16 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população J2 durante o período do estudo

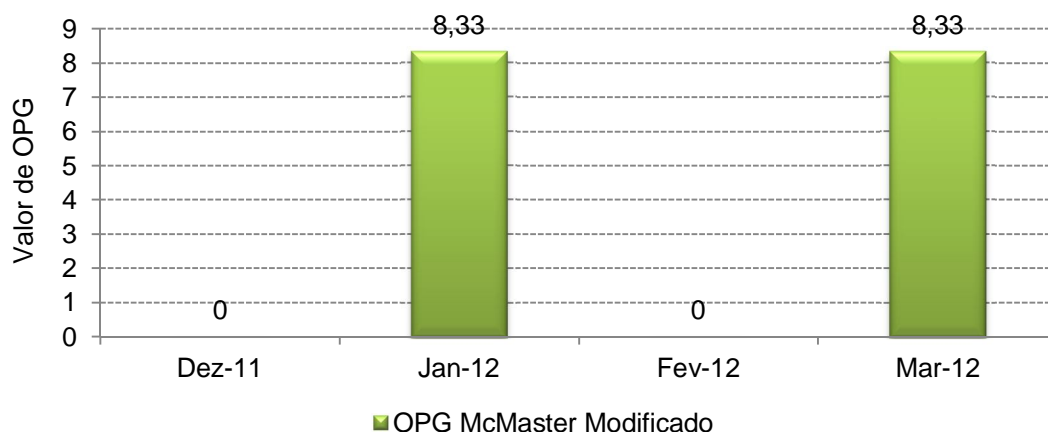
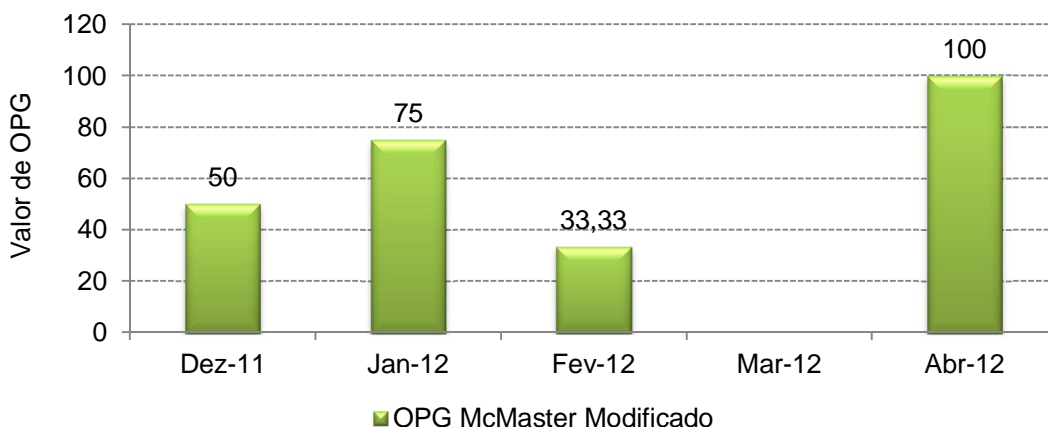


Gráfico 15 - Nível de OPG mensal de McMaster Modificado na população J3 durante o período do estudo

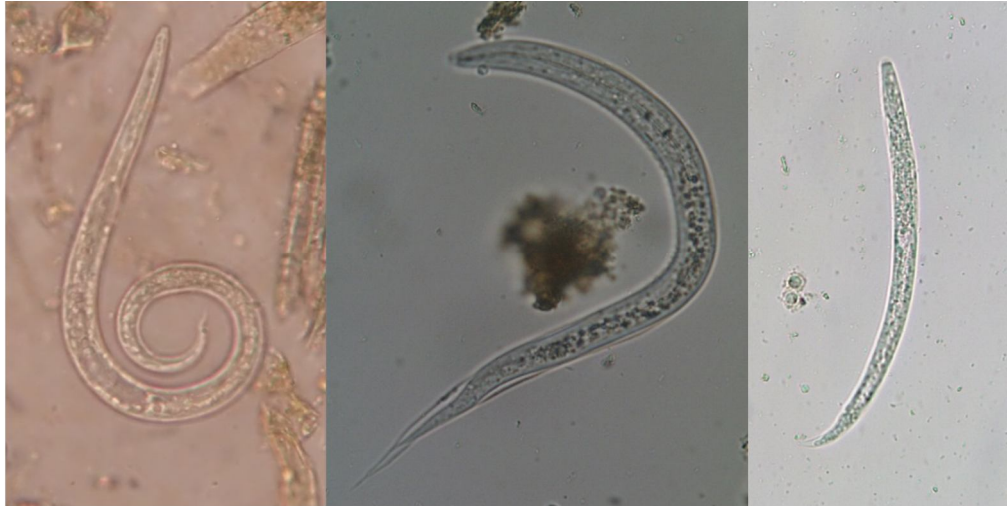


4.1.4 Parasitas Pulmonares

A realização desta técnica permitiu identificar os parasitas pulmonares presentes nas três espécies estudadas de ungulados. Em todas as populações de cervídeos excepto na Gamo 3, foram identificadas três espécies de nemátodes pulmonares, nomeadamente *Muellerius*

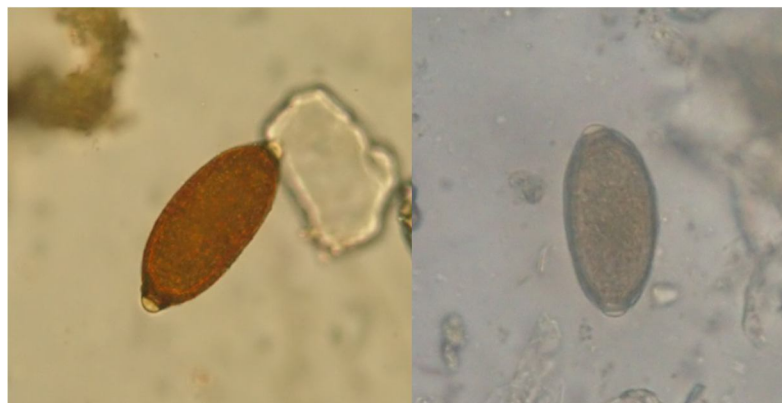
sp., *Protostrongylus* sp. e *Dictyocaulus* sp. (Figura 13). Na população Gamo 3 foram identificados apenas *Muellerius* sp. e *Protostrongylus* sp. O género mais prevalente foi *Muellerius* sp., seguida de *Protostrongylus* sp. e por fim *Dictyocaulus* sp.

Figura 13 - L1 de *Muellerius* sp. (200x) (à esquerda); L1 de *Protostrongylus* sp. (200x) (ao centro); L1 de *Dictyocaulus* sp. (100x) (à direita) (originais)



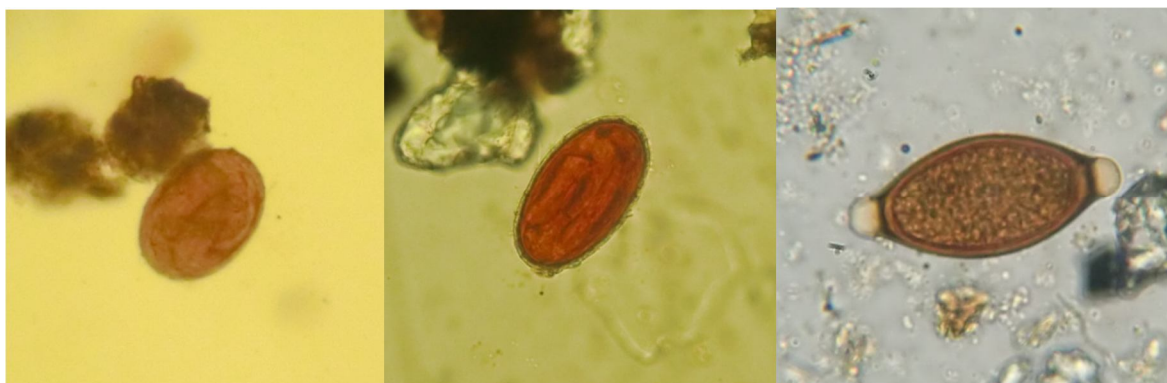
Nesta técnica foram encontrados ovos de *Trichuris* sp. na população Veado 1 e Gamo 3 e *Capillaria* sp. na população Veado 1 (Figura 14).

Figura 14 - Ovo de *Trichuris* sp. em fezes de veado (100x) (à esquerda); ovo de *Capillaria* sp. em fezes de veado (100x) (à direita) (original)



Nas populações de javali, o único nemátode pulmonar identificado foi *Metastrongylus* sp. através da observação do ovo típico com a larva no seu interior (figura 31). Também foram observados ovos do género *Physocephalus* nas três populações, bem como ovos de *Trichuris* sp. nas populações Javali 1 e Javali 2 (Figura 15).

Figura 15 - ovo de *Metastrongylus* sp. (100x) (à esquerda); ovo de *Physocephalus* sp. (100x) (ao centro); ovo de *Trichuris* sp. (100x) (à direita) (originais)



4.2 Parasitas observados em animais capturados através de actividade cinegética

4.2.1 Parasitas Gastrointestinais

4.2.1.1 Gamo

A avaliação parasitológica do tracto gastrointestinal foi realizada após decantação do abomaso, intestino delgado e intestino grosso, bem como abertura e observação do rúmen. A percentagem de animais com pelo menos um dos órgãos parasitados em relação ao total de animais caçados foi de 29,4%. Apenas um animal apresentou parasitas em mais de um órgão, nomeadamente intestino grosso e abomaso, o que corresponde a uma percentagem de apenas 5,9% (em relação ao total dos animais caçados).

No intestino delgado dos gamos caçados, foram encontrados exemplares em apenas um dos 16 intestinos avaliados (6,25%). O número de exemplares encontrados foi de 2 para o Gamo AN. O mesmo se verificou no intestino grosso do Gamo AB e Gamo AD, com 1 e 3 exemplares, respectivamente, o que corresponde a 12,5% de animais positivos (tabela 2).

Na decantação do abomaso dos gamos, foram encontrados exemplares em 3 dos animais, o que perfaz 17,6% dos animais positivos. O mínimo de espécimes encontrados foi de 9 enquanto o máximo foi de 42, sendo a média de 21 espécimes (tabela 2).

A pesquisa de tremátodes, nomeadamente de *Paramphistomum* spp. no rúmen, foi negativa nos 15 rúmens que foram examinados.

Tabela 2 – Parasitas gastrointestinais no gamo

Orgão	Nº animais positivos/ Total de amostras recolhidas	Mínimo - Máximo exemplares recolhidos	Média de exemplares
Abomaso	3/17	9 – 42	21
Intestino Delgado	1/16	2	2
Intestino Grosso	2/16	1 – 3	2

Os animais parasitados, corresponderam em 60% a indivíduos do sexo masculino, enquanto os indivíduos de sexo feminino corresponderam a 40% dos animais parasitados (Tabela 3). A média de idades corresponde a 4,4 anos, sendo que 60% dos indivíduos apresentavam idade entre dois e quatro anos inclusive, e os restantes 40% idade superior a quatro anos, com um máximo de sete anos em um dos indivíduos. Não foram observados parasitas em indivíduos com menos de dois anos de idade (Tabela 4).

Tabela 3 – Relação entre o sexo dos gamos caçados e o grau de parasitismo observado no tracto gastrointestinal

	Sexo	
	Masculino	Feminino
Número de animais parasitados / total de animais parasitados	3/5	2/5
Percentagem	60%	40%

Tabela 4 – Relação entre a idade dos gamos caçados e o grau de parasitismo observado no tracto gastrointestinal

	Idade (Anos)		
	<2	2 a 4 (inclusive)	>4
Número de animais parasitados / total de animais parasitados	0/5	3/5	2/5
Percentagem	0%	60%	40%

As formas parasitárias encontradas correspondiam às espécies *Spiculopteragia mathevossiani* e *Spiculopteragia asymmetrica* para os parasitas encontrados no abomaso (Figura 16). Em um dos gamos não foi possível efectuar a identificação dos nemátodes uma

vez que foram recuperados só espécimes do sexo feminino que não permitem a identificação morfológica. Nos outros dois indivíduos, um apresentava apenas parasitas da espécie *Spiculopteragia asymmetrica* (Gamo AR) enquanto o outro apresentava parasitas adultos das espécies *Spiculopteragia mathevossiani* e *Spiculopteragia asymmetrica* (Gamo AI).

Figura 16 –Extremidade posterior de macho de *Spiculopteragia asymmetrica* (200x) (à esquerda); Extremidade posterior de macho de *Spiculopteragia mathevossiani* (200x) (à direita) (originais)



As formas parasitárias encontradas no intestino delgado e grosso correspondem a exemplares de *Oesophagostomum venulosum* e *Oesophagostomum radiatum* (Figura 17). Em dois dos gamos foram identificados apenas adultos da espécie *Oesophagostomum venulosum*, mas no Gamo AD para além da espécie referida também foi encontrado um indivíduo da espécie *Oesophagostomum radiatum*.

Figura 17 –Extremidade anterior de *Oesophagostomum venulosum* (200x) (à esquerda); Extremidade anterior de *Oesophagostomum radiatum* (200x) (à direita) (originais)



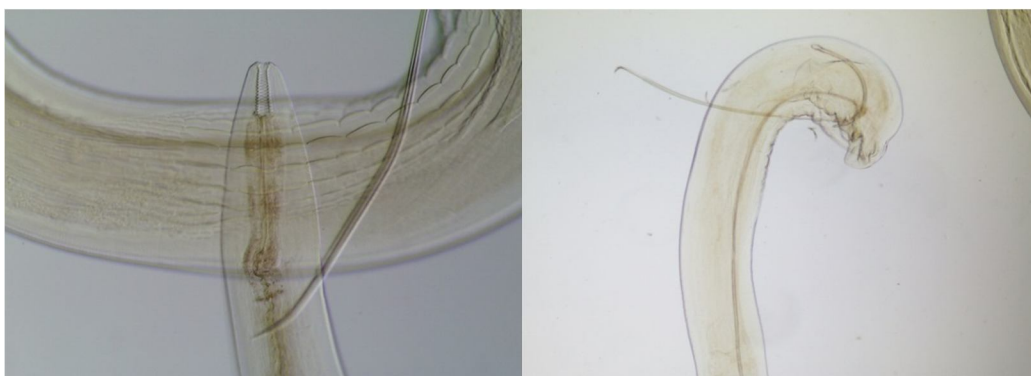
4.2.1.2 Javali

A avaliação parasitológica do tracto gastrointestinal foi realizada por decantação do estômago, intestino delgado e intestino grosso. Foram observados formas parasitárias no estômago e intestino delgado dos javalis. A percentagem total de animais parasitados foi de 33,3%, correspondendo a 3 animais parasitados dos 9 abatidos em acto de caça.

Na decantação do estômago foram encontradas formas parasitárias em dois javalis, o que corresponde a uma percentagem de 22,2%. O número de exemplares encontrados foi de 219 para o Javali AG e de 27 no Javali AJ. Na decantação do intestino delgado foram encontrados dois exemplares do género *Oesophagostomum* no Javali AC.

Os animais parasitados no estômago e intestinos correspondem em 100% a indivíduos do sexo masculino. Todas as formas parasitárias retiradas de ambos os estômagos correspondem a exemplares de *Ascarops strongylina* (Figura 18).

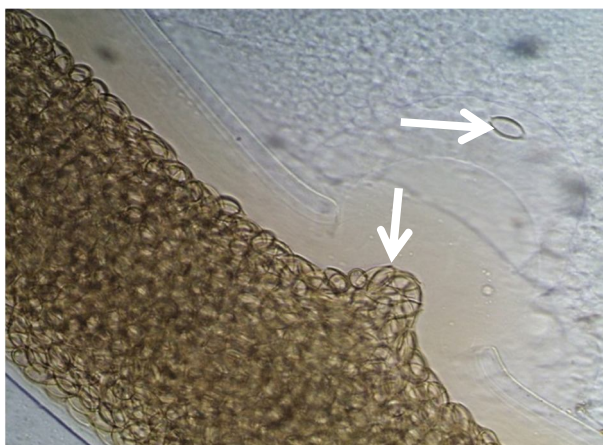
Figura 18 - Extremidade anterior de macho de *Ascarops strongylina* (400x) (à esquerda); Extremidade posterior de macho de *Ascarops strongylina* (200x) (à direita) (originais)



4.2.1.3 Veado

Após a realização da decantação verificou-se a existência de formas parasitárias apenas no intestino grosso. O número de exemplares encontrados foi de dois, ambos do género *Trichuris* sp. Os exemplares encontrados eram do sexo feminino (Figura 19).

Figura 19 – Aspecto dos ovos em fêmea de *Trichuris* sp. (200x) (original)
setas brancas – ovos biopericulados



4.2.2 Parasitas Pulmonares

4.2.2.1 Gamo

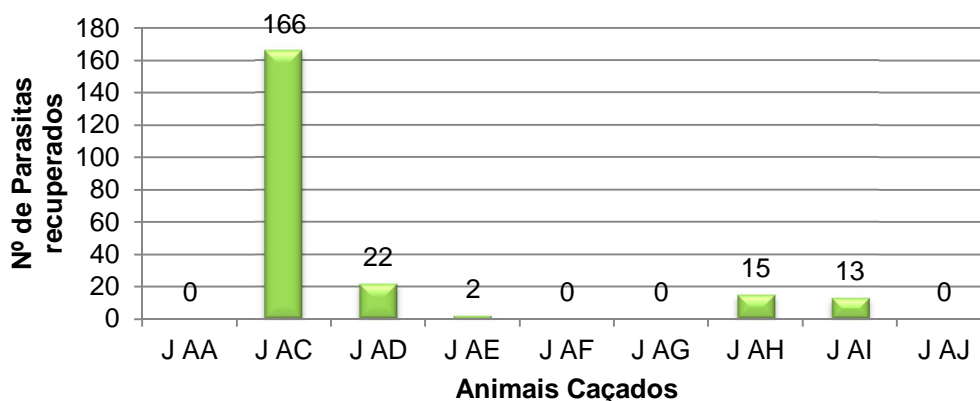
A pesquisa de parasitas pulmonares nas vias respiratórias de todos os gamos caçados foi negativa.

No entanto, realizou-se o teste de Baerman utilizando pedaços de pulmão para verificar se o resultado negativo na pesquisa de parasitas pulmonares nas vias aéreas e pulmões correspondia à realidade. Foram encontradas L1 de *Muellerius* spp. em 4 dos Baerman realizados (15 no total), o que corresponde a 26,7% de amostras positivas para nemátodes pulmonares. No Baerman do pulmão, 100% das amostras positivas correspondiam a gamos machos, tendo todas as fêmeas avaliadas (5) apresentado um resultado negativo. Três dos animais positivos apresentavam 6 ou mais anos, enquanto o outro animal positivo tinha cerca de 1 ano.

4.2.2.2 Javali

Na pesquisa de parasitas pulmonares nas vias respiratórias, verificou-se que 5 amostras eram positivas (55,6%). A média de espécimes encontrados foi de 44 formas parasitárias, sendo o mínimo verificado de 2 e o máximo de 166 exemplares (gráfico 17). Só se observaram parasitas em animais do sexo masculino.

Gráfico 17 – Número de exemplares de *Metastrongylus* spp. recuperados em cada javali



Usando o teste de Baerman para análises de amostras de pulmão, a percentagem de animais positivos a nemátodes pulmonares subiu para 77,8%. A utilização do método de Baerman permitiu verificar que três das amostras que se tinham revelado negativas na pesquisa de adultos foram positivas para ovos com larvas de nemátodes pulmonares. No entanto, uma das amostras que tinha sido positiva na pesquisa de parasitas adultos revelou-se negativa no Baerman.

Na pesquisa de parasitas adultos verificou-se que 100% das amostras positivas correspondiam a machos. No entanto, usando a técnica de Baerman o número de amostras positivas correspondeu a 85,7% de machos e 14,3% de fêmeas.

As formas parasitárias encontradas correspondiam a *Metastrongylus elongatus*, *Metastrongylus salmi* e *Metastrongylus pudendotectus* (Figura 20). Em um dos animais não foi possível fazer identificação da espécie uma vez que se encontravam bastante destruídos. Nos restantes, em 50% dos animais foi verificada uma infecção por uma única espécie, e nos outros 50% foi verificada uma infecção mista por duas espécies. Nas infecções por uma única espécie, esta correspondia a *Metastrongylus salmi*. Nas infecções mistas a espécie *Metastrongylus salmi* encontrava-se sempre presente, mas a segunda espécie variou, sendo no Javali AC *Metastrongylus elongatus* e no Javali AH *Metastrongylus pudendotectus*.

Figura 20 –Extremidade posterior de fêmea de *Metastrongylus elongatus* (100x) (à esquerda); Extremidade posterior de fêmea de *Metastrongylus pudendotectus* (200x) (ao centro); Extremidade posterior de fêmea de *Metastrongylus salmi* (200x) (à direita) (originais)



4.2.2.3 Veado

No veado, tanto a pesquisa de formas parasitárias adultas como os resultados obtidos usando a técnica de Baerman do tecido pulmonar revelaram-se negativas.

4.2.3 Parasitas Hepáticos

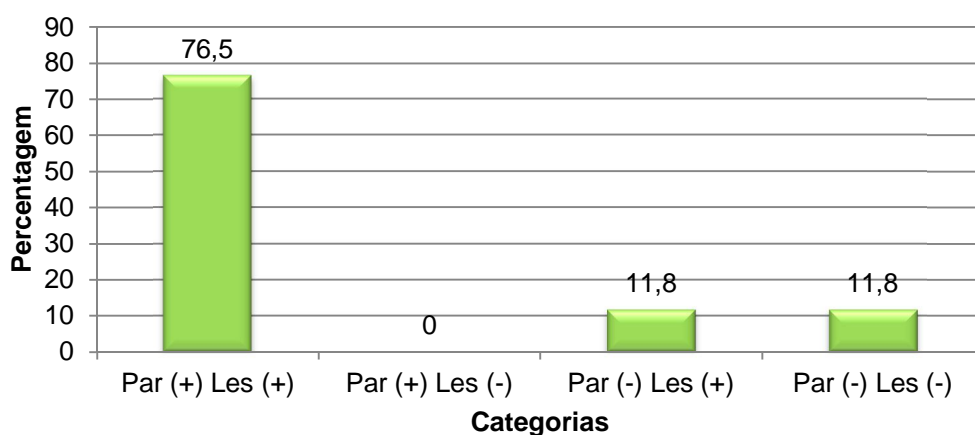
4.2.3.1 Gamo

A prevalência de animais que apresentou espécimes adultos no fígado foi de 76,47%, ou seja 13 dos 17 animais investigados. No entanto, verificou-se que o número de animais que apresentava lesões de fibrose hepática era superior à de animais que apresentavam o parasita, nomeadamente, 88,24% correspondendo a 15 em 17 animais necropsiados (gráfico 18). A intensidade média dos animais positivos foi de $16,3 \pm 12,5$ espécimes.

Analisando as diferenças de sexo verificou-se que a percentagem de machos positivos foi superior à fêmeas, respectivamente, 83,33% e 60%. Os machos apresentaram uma abundância média de parasitas adultos, superior às fêmeas, sendo a média dos machos de $17,1 \pm 12,8$ espécimes (12 animais) contra $1,4 \pm 1,4$ (5 animais) das fêmeas.

Dividindo os animais por escalão etário, a percentagem de animais positivos até 1 ano de idade (inclusive) foi de 75%, de 1 até 4 anos (inclusive) foi de 62,5% e com mais de 4 anos foi de 100%. Verificou-se ainda que a abundância média de parasitas adultos encontrados em animais até 1 ano (inclusive) foi de $21 \pm 13,5$ espécimes, de 1 até 4 anos (inclusive) foi de $3 \pm 3,5$ espécimes e que nos animais com mais de 4 anos foi de $20,8 \pm 11,5$ espécimes.

Gráfico 18 – Relação entre a presença de parasitas de *Fasciola hepatica* e a existência de lesões fibróticas (legenda: Par – Parasitas; Les – Lesões)



4.2.3.2 Javali

No caso do javali, a prevalência de animais que apresentou espécimes adultos no fígado foi de 55,56%, correspondente a 5 dos 9 animais submetidos a pesquisa. A percentagem de lesões hepáticas é, no entanto, extremamente reduzida, correspondendo a 11,11% dos animais investigados, ou seja, apenas um dos animais apresentava fibrose hepática. A intensidade média obtida foi de $3 \pm 1,8$ espécimes.

Os animais que apresentavam *Fasciola hepatica* no fígado eram todos do sexo masculino, sendo a abundância média de parasitas adultos encontrados nesse sexo de 2,1 espécimes (7 animais) (Anexo 13).

4.2.3.3 Veado

O veado submetido a necrópsia não evidenciou nem lesões nem parasitas adultos de *Fasciola hepatica*.

4.2.4 Coprologia dos animais caçados

4.2.4.1 Gamo

Nos gamos submetidos a necrópsia, todos evidenciaram ovos tipo estrongilídeo na técnica de flutuação (100%). Aquando da observação na Câmara de McMaster, o número de animais positivos (≥ 50 OPG) foi de 52,94% (9/17 animais). A média foi de 76 ± 106 OPG. O desvio padrão é bastante elevado uma vez que existem muitos animais com 0 OPG (mínimo) e cinco desses animais apresentavam 150 ou mais OPG.

A média de OPG nos machos foi superior às fêmeas, sendo a média de 95,8 OPG enquanto nas fêmeas foi de apenas 21,4 OPG. Tendo em conta os padrões etários, verificou-se que a média de OPG para animais até um ano (inclusive) foi de 25 OPG, entre 2 e 4 anos (inclusive) foi de 37,5 OPG e para animais com mais de 4 anos foi de 180 OPG.

Na sedimentação, 47,06% (8/17) dos animais apresentaram ovos de *Fasciola hepatica*. A técnica de McMaster modificado foi realizada apenas a 6 animais, tendo sido dois negativos e os restantes apresentaram uma média de 19 ± 22 OPG.

A observação de *Cryptosporidium* spp. revelou-se negativa em todas as amostras.

A coprocultura em copo revelou a presença de dois tipos de larva L3, nomeadamente *Oesophagostomum* e *Ostertagia*, com maior dominância em todos os casos das larvas de tipo *Ostertagia*. Tal como nas populações investigadas, o número de L3 por grama de fezes variou bastante (0,36 - 83,333), tal como a percentagem de desenvolvimento larvar (0,746 - 27,778%).

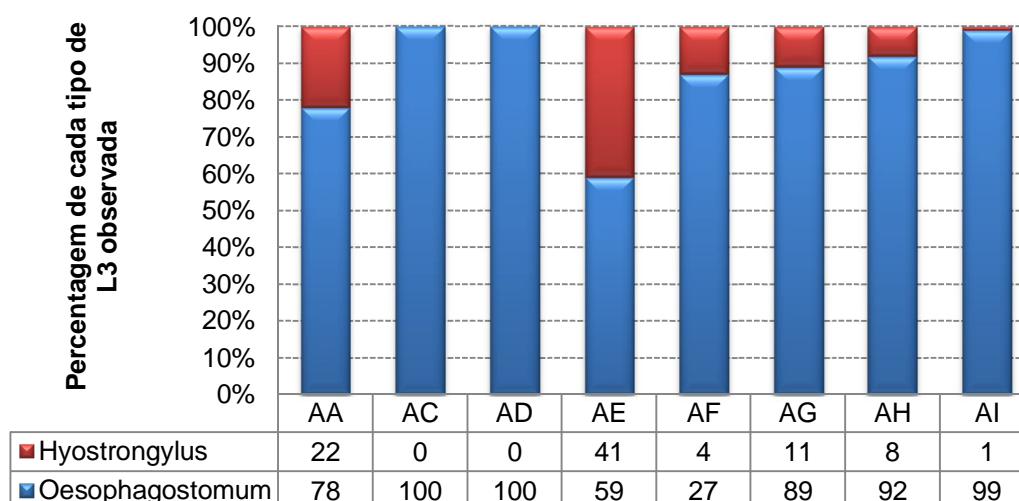
4.2.4.2 Javali

Usando a técnica de flutuação, observou-se em todas as amostras de fezes que os javalis apresentavam quer ovos tipo estrongilídeo, quer oocistos (100%). Usando a técnica de McMaster, observou-se uma grande variação de valores, sendo o mínimo de 550 OPG e o máximo de 25750 OPG, o que dá uma média de 6738 ± 7590 OPG. A média de OPG foi superior nos machos (8591,7 OPG) em relação às fêmeas (1175 OPG).

Na técnica de sedimentação, apenas um dos animais foi positivo (12,5%). Mas utilizando a técnica de McMaster modificado, apenas um dos animais foi negativo (87,5%), sendo a média observada de OPG de *Fasciola hepatica* 39 ± 21 , com um mínimo de 17 OPG e um máximo de 75 OPG.

Quanto às larvas L3, verificou-se uma predominância das larvas de *Oesophagostomum* em relação às larvas tipo *Hyostrongylus* (Gráfico 19), sendo o número de L3 por grama muito oscilante (min. 0,99 – máx. 116,598). A percentagem de desenvolvimento larvar foi sempre muito baixa, não ultrapassando o valor de 1,544%.

Gráfico 19 – Proporção de L3 observada nos javalis abatidos em acto venatório



4.2.4.3 Veado

A amostra de fezes recolhida do veado encontrado morto foi positiva na técnica de flutuação (ovos tipo estrongilídeo) bem como no McMaster, apresentando 150 OPG.

A técnica de sedimentação foi negativa, no entanto, no McMaster modificado apresentou 17 OPG de *F. hepatica*. A contagem de L3 foi extremamente reduzida, reflectindo-se no número de L3 por grama (0,500835) e na percentagem de desenvolvimento larvar (0,333889816%). As L3 observadas foram do género *Cooperia* e *Ostertagia*, havendo uma predominância da última.

4.2.5 Ectoparasitas

4.2.5.1 Gamo

Apenas em dois animais não foram observados ectoparasitas no hábito externo, correspondendo a 88,24% (15/17) de animais positivos. Todos os ectoparasitas observados foram ixodídeos. Dos animais que apresentaram ixodídeos, 66,67% (10/15) apresentavam uma infestação ligeira, 20% (3/15) uma infestação moderada e 13,33% (2/15) uma infestação grave. Após identificação, verificou-se que todos os parasitas pertenciam à espécie *Ixodes ricinus* (Figuras 21 e 22). As fêmeas apresentaram uma percentagem de animais positivos inferior (80%) aos machos (91,7%).

Tendo em conta os escalões etários, os animais até 1 ano apresentavam todos ectoparasitas, seguindo-se o escalão intermédio (87,5%) e por fim o último escalão etário (80%). No primeiro escalão etário foi a classificação 3 a mais prevalente (50%). No escalão etário intermédio foi a classificação 1 a mais prevalente com 85,7%, tal como no último escalão etário em que a percentagem da classificação 1 foi de 75% (Tabela 5).

Figura 21 – Fêmea (à esquerda) e macho (à direita) de *Ixodes ricinus* (15,5x) (original)



Figura 22 – Face ventral de fêmea de *Ixodes ricinus* (à esquerda) (15x); Face ventral de macho de *Ixodes ricinus* (à direita) (27,5x) (originais)



Tabela 5 – Distribuição da infestação por ixodídeos por escalão etário dos gamos
(classificação da infestação: 1 – infestação ligeira; 2 – infestação intermédia; 3 – infestação grave)

Classificação da infecção	Idade		
	≤1 ano	1 a 4 anos	>4anos
1	25%	85,7%	75%
2	25%	14,3%	25%
3	50%	0%	0%

4.2.5.2 Javali

Dois dos animais necropsiados não apresentavam qualquer ectoparasita, sendo a percentagem de positivos de 77,78% (7/9). Nos animais positivos, todos apresentavam unicamente infestação cutânea por ixodídeos. Nenhum dos animais observados apresentava uma infestação ligeira, 44,44% (4/9) apresentavam uma infestação moderada e 55,56% (5/9) apresentavam uma infestação grave. Em todos os animais foram observados exemplares da espécie *Hyalomma lusitanicum* (Figuras 23 e 24). Num dos animais foi no

entanto identificado quer uma fêmea, quer um macho de *Rhipicephalus sanguineus* (figura 25 e 26).

Figura 23 – Face dorsal de fêmea (à esquerda) e de macho (à direita) de *Hyalomma lusitanicum* (16x) (original)



Figura 24 – Face ventral de fêmea (à esquerda) e de macho (à direita) de *Hyalomma lusitanicum* (16x) (original)



Figura 25 – Face dorsal de fêmea (à esquerda) e de macho (à direita) de *Rhipicephalus sanguineus* (20x) (original)



Figura 26 – Face ventral de fêmea (à esquerda) e de macho (à direita) de *Rhipicephalus sanguineus* (20x) (original)



5. Discussão

5.1 Parasitas observados nas diferentes populações animais estudadas

5.1.1 Parasitas Gastrointestinais

Na população de veados, durante o período em que foram colhidas amostras de fezes, ou seja 11 meses, apenas um se pode considerar realmente negativo pois nos restantes 10 meses foram sempre observados ovos de tipo estrongilídeo ou de *Trichuris* spp., quer na Técnica de Willis ou no McMaster, sendo que em 6 meses a positividade foi obtida nos dois testes. A percentagem de amostras positivas à técnica de Willis foi de 72,7%, valor que vai ao encontro do intervalo obtido no estudo realizado na Eslováquia (Medne *et al.*, 2009).

O acompanhamento da população ao longo de todo o ano serviu também o objectivo de verificar se haveria variações mensais nos valores de OPG, algo que não se verificou nesta população. O facto da população de veados se encontrar dentro de um cercado limitado deveria favorecer o parasitismo, no entanto, o facto de ter sido um ano com níveis de humidade mais reduzidos e de não existir vegetação rasteira dentro do cercado podem ter limitado a expansão do parasitismo dentro desta população.

Medne *et al.* (2009) referem que os parasitas mais prevalentes encontrados nas amostras fecais recolhidas de veado são os gastrointestinais, com uma prevalência mais relevante para os estrongilídeos gastrointestinais, algo que também se pode verificar no presente estudo.

Na bibliografia consultada, não foram encontrados estudos semelhantes, em que fosse realizado o acompanhamento de uma ou várias populações deste cervídeo, durante um período alargado no tempo, no qual fossem sendo realizados os mesmos testes para verificar as variações nessas mesmas populações ao longo do ano. O único estudo semelhante realizado foi efectuado na Tapada Nacional de Mafra e apenas em gamos, realizado por Bruno de Sousa (2001).

Nesse estudo, foi verificado um pico de Primavera, com uma excreção superior a 100 OPG. No entanto, no resto do ano a eliminação foi sempre inferior a 100 OPG. No presente trabalho, em nenhuma das populações foi obtido um pico de excreção excepto alguns picos erráticos, não consistentes entre todas as populações observadas, tal como apresentado no capítulo 4.1.1. No entanto, é de referir que tal como no estudo de 2001, os valores das populações apresentaram-se normalmente abaixo dos 100 OPG. Existem duas populações coincidentes entre esse estudo e o presente, que são a G4 e a G5. Mas comparando os resultados de ambos os trabalhos não existem coincidências, quer nos resultados, quer na dinâmica de excreção ao longo do ano. A única coincidência que parece existir é no facto de os valores de ambos os estudos na generalidade serem inferiores a 100 OPG.

No estudo de Medne *et al.* (2009) verificou-se que a prevalência de ovos de estrongilídeos gastrointestinais presentes nas fezes em gamos produzidos em quintas variava entre 30 e 90%, com uma média de 62,5% entre as quatro quintas avaliadas. No presente estudo, das 68 amostras recolhidas entre todas as populações, apenas 3 foram negativas para a técnica de Willis e de McMaster, perfazendo uma prevalência de 95,6%, valor que comparado com o obtido por Medne *et al.* (2009) é bastante superior. No entanto, é de referir que no estudo de Medne *et al.* (2009), não existe qualquer referência à desparasitação dos animais, pelo que não se sabe se o valor obtido pelos autores desse estudo são reais ou subvalorizados.

No entanto, podemos afirmar que o valor obtido no presente estudo é bastante elevado, parecendo existir uma forte presença destes parasitas em todos os locais de estudo. Sendo estes parasitas de ciclo monoxeno, há uma maior probabilidade de contaminação do ambiente e infecção repetida dos indivíduos de uma população, uma vez que estes se mantêm numa área relativamente diminuta ao longo do seu ciclo de vida, onde facilmente poderão aceder às fezes e às ervas, que serão contaminadas de forma persistente.

Em relação aos resultados obtidos nas coproculturas, as larvas do tipo *Oesophagostomum* e tipo *Ostertagia*, encontram-se de acordo com os parasitas observados nos animais necropsiados, presumindo que as L3 de *Spiculopteragia* sejam semelhantes às do tipo *Ostertagia* uma vez que pertencem à mesma subfamília (Ostertagiinae). Além disso, foi sempre verificada uma predominância ao longo do ano em que foi realizado o estudo, das L3 do tipo *Ostertagia* em relação às do género *Oesophagostomum*, excepto no Verão. Nos animais necropsiados foi verificada uma maior infecção por parasitas do género *Spiculopteragia* do que pelo género *Oesophagostomum*, o que poderá explicar esta dominância, uma vez que na coprocultura em copo são dadas as condições ideais de temperatura e humidade para as larvas se desenvolverem. Como não foram submetidos a necrópsia gamos durante os meses de Verão, não foi possível verificar se existe uma maior prevalência do *Oesophagostomum* em relação a *Spiculopteragia*. É importante ainda referir dois parâmetros obtidos, nomeadamente o número de L3/g de fezes e a percentagem de desenvolvimento larvar. Na generalidade das amostras recolhidas o número de L3/g foi sempre inferior a 10, salvo algumas excepções. Nos meses em que foi possível calcular a percentagem de desenvolvimento larvar, verificou-se que na generalidade das populações, o valor era inferior a 20%, valores que são considerados reduzidos.

No caso dos javalis, nos meses em que foi possível recolher fezes, verificou-se que foi possível observar ovos de nemátodes gastrointestinais e obter resultados de McMaster superiores a 100 OPG em todas as amostras, no entanto, é de referir que nas populações J2 e J3, apenas se conseguiu obter fezes em 4 meses.. No estudo de Medne *et al.* (2009), a prevalência de ovos de estrongilídeos gastrointestinais foi inferior, sendo de apenas 62%. No estudo efectuado por Carriço Neves (2013) também se verificou uma prevalência mais reduzida do que no presente estudo. Nos animais jovens Carriço Neves (2013) obteve uma

prevalência de apenas 34,8%, reduzindo nos animais adultos para 29,3% e nos animais em que não foi possível identificar a idade de apenas 0,7%. Isto pode-se dever ao estilo de vida livre destes animais, pelo que uma menor densidade animal conduz a uma menor possibilidade de reinfeção, algo que não se verificou no presente estudo porque a densidade animal é elevada para a área existente (Castro Rego, 2006). Num estudo realizado em Portugal por Calado (2009), em 61 flutuações e em 100 McMaster efectuados, não foram observadas quaisquer amostras positivas para estrongilídeos gastrointestinais, tendo sido apenas encontrado ovos de *Trichuris* sp. em uma das amostras e ovos de *Ascaris suum* também em uma das amostras. Estes resultados em nada coincidem com os verificados no nosso estudo, podendo esta discrepância dever-se ao facto de terem sido realizados em áreas geográficas diferentes, mas também aos factores explicados anteriormente referentes à densidade animal (Castro Rego, 2006).

Num estudo realizado num período de doze meses em Itália por Magi, *et al.* (2005) foram encontradas 37 amostras positivas de 252 recolhidas (21 em cada mês) usando o teste qualitativo, o que perfaz uma prevalência de 14,7%, bastante inferior à registada no nosso estudo. Usando o teste quantitativo, a quantidade de amostras positivas reduzia-se a 28, o que perfaz uma prevalência de 11,1%. Uma das razões que poderá levar a esta diferença de valores será a densidade populacional mais reduzida no estudo efectuado em Itália comparado com o presente estudo. Isto pode ser verificado uma vez que no parque Monti Livornesi cada javali pode ocupar uma área de 12,5 hectares, enquanto na TNM cada javali pode ocupar uma área de apenas 6,88 hectares (utilizando os censos de 2003). De referir ainda, que no estudo efectuado por Magi *et al.* (2005) foram verificados dois picos de excreção, nomeadamente em Abril e Dezembro, algo que não foi possível observar no presente estudo, uma vez que os valores de OPG de ovos tipo estrongilídeo foi pouco constante.

No estudo efectuado em suínos de raça Alentejana em regime extensivo, efectuado em Portugal (Gião Gomes, 2009) verifica-se uma prevalência de explorações com presença de nemátodes bastante elevada (83%). Os parasitas que se destacam foram *Oesophagostomum* spp./ *Hyostrogylus rubidus* (79%), algo que se aproxima dos resultados obtidos no presente estudo uma vez que após realização de coproculturas estes foram os parasitas que se desenvolveram. No entanto, os valores do presente estudo mantêm-se bastante elevados em relação aos obtidos por Gião Gomes (2009).

Tal como referido anteriormente, os valores de OPG ao longo dos meses sofreram bastantes variações, não sendo possível verificar a existência de alguma regularidade e sazonalidade na excreção de ovos de nemátodes gastrointestinais.

No estudo de Medne *et al.* (2009) é referida a presença de *Eimeria* spp. em 84% das amostras. Neste estudo não foi possível avaliar o género do oocisto uma vez que estes ainda não se encontravam esporulados, no entanto, uma vez que no presente estudo os

animais avaliados são na generalidade adultos assumiu-se que se trataria do género *Eimeria* spp. A percentagem de amostras positivas no nosso estudo foi de 46,7%, algo que corresponde a apenas metade do valor do estudo referido, isto se considerarmos que no estudo de Medne *et al.* (2009) a percentagem de *Eimeria* spp representa a totalidade das coccidioses. No entanto, no estudo de Calado (2009), a percentagem ainda foi inferior à dos nossos resultados, sendo positiva apenas em 2% das amostras obtidas. No estudo de Magi *et al.* (2005) também foi efectuada uma avaliação dos oocistos de *Eimeria* durante um período de 12 meses, com 130 amostras positivas (51,6% de prevalência) pelo método quantitativo e 126 amostras positivas (50% de prevalência) pelo método qualitativo. Estes valores de prevalências já se encontram mais próximos dos obtidos no presente estudo. No estudo de Carriço Neves (2013) a prevalência oscilou bastante conforme a faixa etária avaliada. Nos animais jovens a prevalência foi de 26,1%, nos adultos de 1,5% e nos animais em que não foi possível identificar a idade foi de 92,9%. As prevalências mais reduzidas podem-se dever às densidades animais mais reduzidas quer no regime livre, quer nos cotos de caça. No entanto, quando não é efectuado controlo antiparasitário, e tratando-se de um parasita de ciclo biológico directo, a reinfeção pode ocorrer com bastante facilidade, podendo atingir prevalências muito elevadas como é o caso dos animais em que não foi possível avaliar a idade (Carriço Neves, 2013). Os valores obtidos por Gião Gomes (2009), em suínos de raça Alentejana criados em regime extensivo, onde o contacto com javalis de vida livre é constante, também foi bastante elevado em relação ao presente estudo, tendo o género *Eimeria* spp. uma prevalência de 79% e de *Cystospora suis* de 58%. Estes valores podem-se dever a uma densidade animal ainda superior ao existente na TNM, uma vez que mesmo sendo um regime de criação extensivo, a área é mais rentabilizada aumentando a densidade animal.

Além disso, e como foi referido no capítulo 4.1.1, a média para as três populações foi bastante elevada, especialmente na população Javali 1. No entanto, é de referir que nas três populações de javalis não se conseguiu obter fezes em todos os meses pelo que a média na realidade anual pode ser diferente.

Na coprocultura em copo verificou-se a presença de dois géneros de larvas L3, ou seja, *Hyostrongylus* e *Oesophagostomum*. A população J1 foi a que permitiu observar dados mais reais da dinâmica de proporção entre estas duas larvas ao longo do ano, uma vez que apenas nesta foi possível fazer a recolha de fezes ao longo de 7 meses. A predominância no caso dos javalis foi das larvas de *Oesophagostomum*. No estudo de Gião Gomes (2009) apesar de ter sido por observação de ovos e não através de coprocultura, os dois géneros mais assinalados também foram *Oesophagostomum* spp. e *Hyostrongylus rubidus*, tendo sido assinalados em 79% das explorações.

De referir ainda, que tal como os valores de OPG foram muito instáveis durante o estudo, o mesmo se verificou no nºL3/g, não havendo estabilidade uma vez que existem valores muito

reduzidos e valores muito elevados. No entanto, a percentagem de desenvolvimento larvar foi sempre muito baixa (inferior a 2%), nunca tendo ultrapassado os 10% em nenhum dos meses.

5.1.2 Género *Cryptosporidium*

Na população de veados, foi encontrada uma única amostra positiva durante os meses abrangidos pelo estudo. Se for tido em conta o único estudo efectuado em veados, a prevalência é mais reduzida que os animais encontrados em regime livre na Polónia, mas no entanto, é superior à encontrada no caso dos animais criados em quinta (aproximadamente o dobro) (Paziewska *et al.*, 2007). O regime de enclausuramento em que estes animais se encontram na Tapada Nacional de Mafra seria semelhante ao de uma criação numa quinta, uma vez que a alimentação e água de que dependem é toda fornecida e encontram-se limitados no espaço por um cercado. Isto poderia ser um factor positivo de dispersão deste parasita no cercado, mas para tal era necessário haver uma quantidade infectante aceitável, algo que pela única amostra observada não era possível afirmar, uma vez que a infecção era muito ligeira. Além disso, *Cryptosporidium* sp. depende de ambientes com água para a sua disseminação, algo que o cercado dos veados não favorece, uma vez que o bebedouro não é muito grande e aquando da lâmina positiva foi retirada água do mesmo para verificar a possibilidade de *Cryptosporidium* sp. na água, algo que se revelou negativo.

Os gamos tal como nos veados apresentaram índices bastante reduzidos deste parasita, tendo sido encontrada uma única amostra positiva em apenas uma das populações. Tal como nos veados, foram efectuadas análises à água no sentido de encontrar este parasita nos principais bebedouros e charcas, algo que se revelou mais uma vez negativo. Bruno de Sousa (2001) refere que dos gamos caçados, todos eles apresentavam infecções por *Cryptosporidium* sp. Sendo o acto venatório, representativo de quase todas as populações da Tapada de Mafra, pode-se considerar que provavelmente todas as populações estariam infectadas. No entanto, até 2011/2012 existe esta discrepância de valores muito acentuada. Para tentar perceber, foi realizada uma pesquisa de possíveis factores climáticos, abióticos ou animais que pudessem ter diminuído tão drasticamente a presença deste parasita nas populações de gamos. O único factor encontrado foi um incêndio de grandes proporções que afectou 80% da área da Tapada Nacional de Mafra em 2003. *Cryptosporidium* é um parasita muito sensível a temperaturas elevadas (>65°C) e à dessecação, factores que existem num incêndio das dimensões do que ocorreu (Bowman, 2009). No entanto, após questionar os funcionários que se encontravam durante esse período na Tapada de Mafra, os animais escaparam para a zona não ardida, pelo que existindo uma infecção tão elevada, esta teria sido mantida pelos animais que depois retornando aos seus habitats anteriores teriam novamente iniciado a dispersão deste

parasita. Poderia haver uma diminuição na prevalência, mas não parece ser razão para uma diminuição tão acentuada. No entanto, todas estas alterações poderão ter contribuído para a diminuição da infecção por *Cryptosporidium* sp. nestas populações.

5.1.3 Parasitas Hepáticos

Na população de veados, foram observados ovos de *F. hepatica* unicamente em dois meses (considerando os dois testes utilizados). No entanto, esta foi a população que apresentou menor percentagem de observações de ovos de *Fasciola hepatica*. Apesar de a ovopostura ser intermitente, não parece ser este o factor de tão baixa prevalência deste parasita nesta população. Os veados encontram-se dentro de um cercado bastante limitado, praticamente sem vegetação devido à pequena área existente e grande população. Além disso, o acesso à água limita-se ao bebedouro que é limpo com uma frequência regular. Desta forma, não são criadas as condições ideais para a existência, quer dos HI, quer das formas intermédias do parasita (Dunn, 1978; Urquhart *et al.*, 1998). Tendo estes factores em conta seria de esperar que os resultados fossem totalmente negativos. No entanto, existe uma cerva que quando é aberto o portão se desloca para o exterior, alimentando-se junto a um curso de água, onde facilmente poderá ingerir metacercárias na vegetação circundante. Tendo em conta estes factores, é normal que na sedimentação a percentagem de positivos tenha sido de apenas 9,1% e no McMaster Modificado de 10%.

No estudo efectuado em quatro quintas de produção de veados na Eslováquia, verificou-se que a percentagem de animais parasitados era também reduzida, variando entre os 0 e 3%, no entanto, as condições do local de estudo não permitem efectuar uma avaliação comparativa. Para além da Eslováquia, também Sleeman (1983) havia assinalado a presença deste parasita em veados na Irlanda. Esta espécie de parasita já tinha sido assinalada também na Tapada Nacional de Mafra em veados necropsiados, tendo sido observado no estudo de 2001 a percentagem de 33,3% de animais positivos (Maia, 1993; Maia, 2001).

No caso das populações de gamos, os únicos países que registam este parasita nesta espécie animal na Europa são Portugal, Eslovénia e Espanha (Maia, 1993; Maia, 2001; Bruno de Sousa, 2001; Vengušt, Klinkon, Bidoveca & Venguštc, 2003; Alasaad *et al.* 2007; Alasaad *et al.* 2008).

O facto de se ter aliado a técnica de sedimentação simples, com a técnica de McMaster modificado permitiu melhorar a sensibilidade, conseguindo muitas vezes em meses que a sedimentação simples foi negativa, obter ovos de *F. hepatica*. Este acompanhamento prolongado, usando duas técnicas, visava tentar observar um possível padrão de excreção de ovos de *F. hepatica* ao longo do ano e também quantificá-lo.

Em todas as populações de gamos avaliadas, se observou a presença de ovos de *F. hepatica*, tendo em 71,4% das populações sido registado menos de 50% das amostras positivas se tivermos em conta unicamente a sedimentação simples. Mas se houver uma conjugação dos dois métodos verificamos que a média de meses positivos sobe consideravelmente, diminuindo para apenas 42,9% o número de populações com menos de 50% de amostras positivas.

O segundo objectivo de quantificação dos ovos de *F. hepatica* permitiu verificar que não existe um padrão de excreção, havendo picos de excreção que não são regulares entre as populações. Nas populações em que foi possível verificar picos de excreção, percebeu-se que estes se concentravam essencialmente entre Dezembro de 2011 e Março de 2012. Houve outras populações em que este também poderia ser o padrão, mas a ausência de fezes em alguns meses do ano não permite esta afirmação. Os picos considerados variaram entre 41,7 OPG e 75 OPG. No entanto, estes picos não representavam populações com média muito mais elevada, tendo-se verificado em 4 populações que a média de OPG variou entre 1,7 e 6,1, enquanto nas restantes três populações variou entre 13,3 e 20 OPG.

No entanto, assumindo questões de sanidade animal, pode-se considerar que a *Fasciola hepatica* é um parasita com uma dimensão crescente nas populações, algo que não é de todo desejável para a manutenção das populações cinegéticas. Castro Rego (2006) assinala que em 1981-1983, a grande problemática sanitária dos gamos era *F. hepatica*. Assim que foi feito este reconhecimento, até 1991 iniciaram-se várias metodologias para diminuir a presença e importância deste parasita, controlando quer o HI através da aplicação de carbonato de cálcio nos seus locais preferenciais, bem como uma campanha de desparasitação regular dos HD. Isto levou a uma diminuição acentuada deste parasita até ao ano de 1993. Nos novos estudos de 1999-2000 após a interrupção das acções de controlo verificou-se novo aumento do parasita. Isto pode ser observado no estudo de Bruno de Sousa (2001), onde este autor refere uma prevalência de 43,8% de *Fasciola hepatica* nos gamos abatidos em acto de caça. Como se pode verificar neste presente estudo, os indicadores sanitários em relação a este parasita não são animadores, uma vez que todas as populações apresentam excreção de ovos do parasita, e os animais abatidos em época venatória são um excelente indicador desse problema, tal como referido posteriormente.

As três populações de javalis avaliadas, apresentaram uma taxa de positividade no teste de sedimentação, iguais ou superiores a 50% (J1 - 85,7%; J2 - 50%; J3 - 100%). No entanto, se tivermos em conta a técnica de McMaster modificado em conjugação com a técnica de sedimentação simples, duas das populações de javalis apresentam 100% das amostras positivas. Mas é preciso não fazer uma comparação errada com os gamos, porque o número de meses em que se conseguiu fezes no caso dos gamos foi superior aos javalis, tendo sido o limite máximo de recolhas nos javalis de 7 meses. Estes valores são mais

elevados que os obtidos por Bruno de Sousa (2001) em que a prevalência de *F. hepatica* em javalis abatidos em acto de caça foi de 66,6%.

Os resultados da técnica da McMaster modificado foi muito superior ao dos gamos, tendo-se verificado OPG muito elevados em duas das três populações avaliadas. A única população em que parece existir alguma dinâmica na excreção de ovos é a população J1, havendo um aumento exponencial nos meses de Primavera, começando então a reduzir-se. No entanto, a ausência de dados sobre os meses de Verão e de Outono, não permitem criar uma imagem clara de que esta regularidade na excreção se iria manter nos meses subsequentes à última recolha conseguida.

Tirando a população J2 que apresentou valores bastante reduzidos (média de 4,2 OPG), as restantes populações apresentaram médias elevadas, nomeadamente, 94 OPG na J1 e 64,6 OPG na J3. No entanto, mais uma vez se refere o diminuto número de recolhas possíveis que foram efectuadas.

Tal como nos gamos, acredita-se que esta seja uma das principais parasitoses, uma vez que foi encontrada nas três principais populações avaliadas, e com prevalências e quantidades significativas de ovos. O facto de o javali ser omnívoro e ingerir uma grande quantidade de espécies herbáceas, preferencialmente as mais verdes que se encontram junto a cursos de água ou charcas permite um maior acesso ao HI. Além disso, e como referido anteriormente, o abandono das técnicas de controlo do HI através da colocação de carbonato de cálcio e a desparasitação dos HD levou a aumento gradual da presença de *F. hepatica*.

5.1.4 Parasitas Pulmonares

No teste de Baerman efectuado às fezes da população de veado, foram encontradas três géneros de nemátodes respiratórios, nomeadamente *Muellerius* sp., *Protostrongylus* sp. e *Dictyocaulus* sp. Os dois últimos géneros encontram-se de acordo com a bibliografia consultada, sendo no entanto o género *Dictyocaulus* o mais assinalado, comparando com o género *Protostrongylus* (Sleeman, 1983; García-Romero *et al.*, 2000; Divina *et al.*, 2002; Martínez Delgado *et al.*, 2006; Medne *et al.*, 2009; Kusak *et al.*, 2012).

O género *Muellerius*, que se mostrou ser o mais prevalente na população de veados não foi encontrado na bibliografia europeia consultada, pelo que se considera que é a primeira vez que este é assinalado quer em Portugal, quer na Europa.

A excreção de larvas L1 nas fezes não foi contínua, havendo alguns meses em que não foram registadas larvas no Baerman, tendo sido excretadas em 45,5% dos meses do estudo. Não foi observado nenhum padrão sazonal de excreção, sendo por vezes assinalado em meses alternados.

Nos gamos, em 85,7% das populações observaram-se L1 dos géneros *Muellerius*, *Protostrongylus* e *Dictyocaulus*. Houve no entanto uma das populações em que se observou apenas L1 de *Muellerius* e *Protostrongylus*. Os géneros observados encontram-se de acordo com a bibliografia consultada, excepto o género *Muellerius* que não se encontra descrito nesta espécie animal (Sleeman, 1983; Divina *et al.*, 2002; Medne *et al.*, 2009).

O género *Dictyocaulus* foi observado em 15,9% das amostras de todas as populações, o género *Protostrongylus* em 29% das amostras e o género *Muellerius* em 84,1%, pelo que é perceptível o domínio deste último género em relação aos outros dois. Nas populações G2, G3, G4 e G5 observou-se um domínio bastante acentuado das larvas de *Muellerius*. A descoberta do género *Dictyocaulus* e *Protostrongylus* foi esporádica e em números sempre mais diminutos. No entanto, durante o mês de Março, nestas quatro populações foi observado um aumento das L1 de *Protostrongylus* que não se manifestou com expressividade em mais nenhum mês do estudo. Nas populações G6 e G9 as colheitas positivas foram muito poucas, pelo que se torna difícil tirar conclusões. Na população G8 foi possível observar, apesar do domínio do género *Muellerius*, uma maior presença do género *Protostrongylus* e *Dictyocaulus*.

O uso da técnica de Baerman permitiu perceber melhor a presença de parasitas pulmonares nas espécies estudadas, uma vez que em necrópsia nunca se conseguiu recuperar espécimes adultos destes três géneros. Uma das causas possíveis para a não recuperação de adultos destes parasitas é a forma de caça, em que normalmente o tiro visa atingir pulmões e coração.

No caso dos javalis, em 100% das amostras positivas, o género encontrado foi *Metastrongylus* algo que se coaduna com a bibliografia consultada (Humbert & Henry, 1989; Bruno de Sousa, 2001; de-la-Muela *et al.*, 2001; Rajković-Janje *et al.*, 2002; Fernandez-de-Mera *et al.*, 2003; Bruno de Sousa *et al.*, 2004; Foata *et al.*, 2005; Magi *et al.*, 2005; Varga *et al.*, 2005; Vedrine, 2006; Jarvis *et al.*, 2007; Calado, 2009; Gião Gomes, 2009; Nosal *et al.*, 2010; Carriço Neves, 2013).

Na população J2 e J3, 100% das amostras foram positivas para o género. Refere-se que a pequena quantidade de amostras recolhidas pode ou não corresponder à realidade. No entanto, a população J1 da qual se recolheu mais amostras apresentou uma prevalência mais reduzida, sendo essa de 57,1%.

Comparando com os estudos que fizeram a aplicação de testes de Baerman para detecção em fezes dos ovos deste parasita, a prevalência de Calado (2009) que foi de apenas 5% é muito inferior à obtida pelo presente estudo. Gião Gomes (2009) também obteve uma prevalência de apenas 29% nas 24 explorações de suínos de raça Alentejana estudadas. O estudo efectuado por Carriço Neves (2013) verificou uma prevalência de *Metastrongylus* spp. de 0,87% em javalis jovens, 0,98% em javalis adultos e 0,7% em animais cuja idade não pode ser determinada. Magi *et al.* (2005) também efectuou um estudo que se prolongou

durante um ano (com recolhas mensais), no entanto as técnicas utilizadas foram diferentes, uma vez que esta autora utilizou apenas a técnica de Flutuação e McMaster. A prevalência utilizando o teste de flutuação foi de 21,4% e utilizando o McMaster foi de 20,6%, valores bastante inferiores ao obtido no actual estudo. Isto poderá dever-se ao facto de a técnica de Baerman estar desenhada para encontrar parasitas pulmonares enquanto as técnicas utilizadas pela autora são mais utilizadas para parasitas gastrointestinais. Além disso, é de referir que no presente estudo, não foi utilizada unicamente a técnica de Baerman, como também foi efectuada a passagem dos detritos das fezes após o Baerman por um sistema de crivos, de forma a eliminar os detritos do campo de observação, algo que melhorou bastante a observação e a colheita de ovos deste género parasitário. Na verdade, esta pequena modificação metodológica, permitiu uma grande diferença nos resultados em relação à bibliografia consultada pelo que pode ser uma melhoria a implementar no método. Segundo Castro Rego (2006), a Tapada Nacional de Mafra sofre de uma sobrepopulação da javalis que não se tem conseguido eliminar pelo número insuficiente de animais caçados por ano, algo que poderá levar a uma maior facilidade de proliferação parasitária entre estes animais. Além disso, durante o estudo, conseguimos observar uma grande quantidade de anélídeos nos terrenos foçados pelos javalis, e sendo estes os HIs dos parasitas do género *Metastrongylus*, poderá ser uma das razões que leva a uma manutenção de tão elevada prevalência.

5.2 Parasitas observados em animais capturados através de actividade cinegética

5.2.1 Parasitas gastrointestinais

Medne *et al.* (2009) afirmam que os parasitas mais comuns nos gamos são os gastrointestinais e pulmonares, algo que na TNM não se verificou, uma vez que o parasita mais comum foi um parasita hepático, nomeadamente *F. hepatica*, uma vez que este apresentou uma percentagem de 76,47% de animais positivos, contra 29,4% para parasitas gastrointestinais e 26,7% dos Baerman positivos, mesmo não tendo sido encontrados nenhuns parasitas pulmonares.

Os parasitas verificados no abomaso de gamo estão de acordo com a bibliografia, nomeadamente *Spiculopteragia asymmetrica* e *Spiculopteragia mathevossiani* (Sleeman, 1983; Davidson *et al.*, 1985; Bruno de Sousa, 2001; Cisek *et al.*, 2003a; Santín-Durán *et al.*, 2004; Balicka-Ramisz *et al.*, 2005; Ramajo Martín *et al.*, 2007; Morse *et al.*, 2009). No entanto, é de referir que *S. mathevossiani* encontra-se referenciada em Portugal unicamente no veado, pelo que esta pode ser a primeira referência a esta espécie parasitária no gamo (Vila-Viçosa & Pais Caeiro, 2007).

No intestino grosso e delgado foram observados espécimes de *Oesophagostomum venulosum* e *Oesophagostomum radiatum*, tal como foi assinalado por Davidson *et al.*

(1985), Maia (1993), Maia *et al.* (1994), Maia (2001), Bruno de Sousa (2001), Cisek *et al.* (2003a) e Balicka-Ramisz *et al.* (2005). A percentagem de animais positivos foi de 17,65% para este parasita. Maia (1993) obteve uma percentagem semelhante (15,38%) no mesmo local, tendo-se repetido o resultado num estudo realizado pela mesma autora em 2001 (15,4%). Bruno de Sousa (2001) obteve um resultado díspar dos outros estudos, tendo verificado a presença deste parasita em 50% dos animais abatidos. Os restantes autores referidos anteriormente apresentaram prevalências bastante mais elevadas, não correspondendo aos valores obtidos neste estudo.

Nos grupos etários analisados, é de referir que os animais até um ano de idade não apresentaram parasitas gastrointestinais. Os parasitas foram encontrados em hospedeiros com 2 ou mais anos, sendo que nas duas divisões etárias efectuadas (de 2 até 4 anos inclusive e 4 anos em diante) só se verificaram parasitas abomasais no escalão etário intermédio. No último escalão etário foram encontrados apenas parasitas intestinais do género *Oesophagostomum* em infecções muito baixas. No escalão etário intermédio, onde se verificaram os parasitas abomasais, já se verificou uma infecção mais elevada. Morse *et al.* (2009) apresentaram os resultados de 5 abomasos recuperados de animais do escalão intermédio, no entanto, a ausência dos outros escalões não permite a comparação. Bruno de Sousa (2001) obteve resultados diferentes uma vez que três gamos com menos de 2 anos continham parasitas gastrointestinais, sendo que um deles continha parasitas abomasais. No entanto, como no presente estudo, as infecções mais elevadas e prevalentes foram encontradas em gamos do escalão intermédio.

Foi encontrada uma ligeira diferença entre os dois sexos na presença de parasitas, uma vez que 60% dos animais positivos eram machos e 40% eram fêmeas. É importante referir, que a amostra de animais positivos foi pequena, sendo representada por apenas 5 indivíduos. Bruno de Sousa (2001) verificou que no mesmo local, apenas as fêmeas apresentavam parasitas intestinais e que 83,3% das infecções abomasais ocorriam em fêmeas.

Foi encontrada apenas uma espécie de parasita no estômago do javali, nomeadamente *Ascarops strongylina*. Esta espécie é referida em muitos dos estudos efectuados a nível europeu em javali (Humbert & Henry, 1989; de-la-Muela, 2001; Rajković-Janje *et al.*, 2002; Fernandez-de-Mera, 2003; Bruno de Sousa *et al.*, 2004). Este parasita foi encontrado em apenas 22,22% dos animais necropsiados. No estudo de de-la-Muela (2001) obteve-se uma prevalência mais reduzida (11%) para os animais importados de França, tendo sido os autóctones espanhóis muito mais elevado (60%). No estudo de Bruno de Sousa *et al.* (2004) também se obteve uma prevalência mais reduzida que no presente estudo (12,5%), sendo que todos os restantes estudos referidos anteriormente obtiveram valores muito mais elevados.

A intensidade média foi de 123 ± 96 espécimes nos animais positivos para *A. strongylina*. O outro estudo realizado na TNM encontrou apenas um espécime num javali pelo que não

pode ser utilizado para comparação deste valor. Nos restantes estudos europeus os valores foram sempre mais baixos, sendo que Rajković-Janje *et al.* (2002) e Humbert & Henry (1989) obtiveram valores mais próximos deste estudo, respectivamente, 89.5 ± 55.6 e $120,6 \pm 55,2$ (este último refere-se apenas aos animais com menos de 1 ano, ou machos com menos de 50 kg de peso ou fêmeas com menos de 45 kg de peso).

Apesar da amostra ser reduzida, foram encontrados parasitas apenas em machos. O único estudo que efectua uma comparação entre o sexo dos animais é da autoria de Rajković-Janje *et al.* (2002) em que obtiveram o resultado oposto, tendo as fêmeas obtido uma prevalência mais elevada (72%) que no caso dos machos (47,4%).

5.2.2 Parasitas pulmonares

Na pesquisa efectuada durante a necrópsia dos gamos não foram encontrados parasitas pulmonares nas vias aéreas destes animais, no entanto, 26,7% dos Baerman foram positivos para larvas L1 de *Muellerius* sp. Na bibliografia consultada não foi encontrada referência a este protostrongilídeo no gamo podendo esta ser a primeira referência a nível europeu, havendo referência apenas aos géneros *Dictyocaulus* e *Protostrongylus* e as espécies *Elaphostrongylus cervi* e *Varestrongylus sagittatus* (Sleeman, 1983; Balicka-Ramisz *et al.*, 2005; Panayotova-Pencheva, 2006; Divina *et al.*, 2008; Medne *et al.*, 2009).

Nos Baerman efectuados, foi encontrada positividade apenas em machos, sendo que no sexo masculino a prevalência foi de 40% (4/10). No entanto, é importante referir que a dimensão da amostra do sexo feminino foi reduzida. Além disso, foi observado um estado corporal superior nas fêmeas relativamente aos machos.

Em relação à idade, 75% das amostras positivas (3/4) pertenciam a animais no último escalão etário, com mais de quatro anos de idade, pelo que pode haver uma predisposição desta parasitose para animais mais velhos, que já se encontram em regressão. O outro animal positivo era um vareto, com cerca de um ano.

A pesquisa de parasitas pulmonares adultos nos javalis foi positiva em 55,6% das amostras. Todas as amostras positivas foram de parasitas do género *Metastrongylus*, algo que se coaduna com a bibliografia encontrada. As percentagens deste parasita normalmente são muito elevadas (>75%) nas pesquisas efectuadas, salvo algumas excepções (Humbert & Henry, 1989; de-la-Muela *et al.*, 2001; Rajković-Janje *et al.*, 2002; Fernandez-de-Mera *et al.*, 2003; Foata *et al.*, 2005; Magi *et al.*, 2005; Varga *et al.*, 2005; Vedrine, 2006; Jarvis, 2007; Nosal *et al.*, 2010).

Foram encontradas 3 espécies, nomeadamente *Metastrongylus pudendotectus*, *M.* e *M. salmi*. Em um dos animais, não foi possível identificar nenhum dos espécimes recuperados por se encontrarem bastante danificados. Nos restantes quatro, em dois verificou-se apenas uma espécie (*M. salmi*) e nos outros dois indivíduos verificou-se a conjugação de *M. salmi*

com outra das espécies identificadas. As três espécies já haviam sido identificadas na Tapada Nacional de Mafra (Barata & Afonso-Roque, 1989; Bruno de Sousa, 2001).

Em Portugal, foram realizados mais dois estudos na Tapada Nacional de Mafra em 2001 e 2004 (Bruno de Sousa, 2001; Bruno de Sousa *et al.*, 2004). Os resultados obtidos não correspondem aos obtidos neste estudo, tendo sido a prevalência em 2001 de 63,6% e em 2004 de 42,1%. Esta diferença de prevalências, provavelmente terá a ver com a disponibilidade do hospedeiro intermediário e a quantidade de larvas infectantes L3 neste mesmo hospedeiro (Humbert & Henry, 1989).

Esta prevalência mais baixa que os restantes estudos europeus vai contra a conclusão de Rajković-Janje *et al.* (2002), que verificaram que as áreas vedadas continham maior percentagem de parasitas pulmonares que as áreas livres. Varga (2005) também verificou que não seria possível obter esta conclusão uma vez que uma das áreas vedadas obteve uma percentagem semelhante à obtida no presente estudo, enquanto outra obteve uma percentagem muito elevada (90,8%). Carriço Neves (2013) obteve resultados mais próximos do presente estudo, tendo obtido uma prevalência de 65,2% de javalis com parasitas do género *Metastrongylus*. Os animais utilizados neste estudo também eram provenientes de zonas de caça vedadas, pelo que as condições destes animais poderiam ser semelhantes às do presente estudo.

Os animais positivos corresponderam todos a indivíduos do sexo masculino. A percentagem de machos positivos foi de 71%. A influência do sexo dos animais na prevalência e intensidade de infecção dos animais não é consensual nos vários estudos europeus que abordaram esta problemática. No estudo realizado na Estónia, Jarvis *et al.* (2007) não encontraram qualquer relação entre a prevalência e intensidade deste parasita e o sexo dos animais. No entanto, Rajković-Janje *et al.* (2002) na Croácia verificaram que tanto para *M. apri* como para *M. pudendotectus* eram mais prevalentes nos machos. Na intensidade de infecção verificava-se o inverso em *M. apri*, uma vez que este apresentava uma média mais elevada nas fêmeas do que nos machos, enquanto *M. pudendotectus* não apresentava diferença significativa. Num outro estudo realizado por Varga *et al.* (2005) na Croácia conseguiu-se perceber que o género dos animais não é directamente proporcional à prevalência de *Metastrongylus* spp., uma vez que numa das áreas de estudo a prevalência foi superior para as fêmeas, noutra das áreas não havia uma diferença significativa e na terceira área a prevalência era superior nos machos em comparação com as fêmeas. No entanto, na Polónia, Nosal *et al.* (2010) também verificaram que os machos apresentavam prevalências muito mais elevadas que as fêmeas para as cinco espécies de metastrongilídeos estudadas.

5.2.3 Parasitas Hepáticos

A presença de *Fasciola hepatica* nestes animais é algo muito pouco documentado fora do território nacional, sendo referido no veado na Eslováquia e Irlanda, enquanto no gamo só é referido na Irlanda, e mesmo dentro de Portugal só se encontram referências na Tapada Nacional de Mafra (Sleeman, 1989; Maia, 1993; Maia, 2001; Bruno de Sousa, 2001; Medne *et al.*, 2009).

A percentagem de animais positivos a *Fasciola hepatica* é a mais elevada de sempre na TNM, sendo que Maia registou em 1993 e 2001 percentagens próximas dos 15%, e Bruno de Sousa em 2001 registou 44% de positivos, enquanto neste estudo o valor subiu para 76,5%. Torna-se ainda importante referir que a percentagem de animais que apresentavam lesões de migração de formas imaturas de *Fasciola hepatica* era superior ao número de animais positivos, atingindo 88,2% dos animais necropsiados, valor que relativamente ao estudo de Bruno de Sousa (2001) subiu bastante uma vez que estava registada uma percentagem de apenas 56,3%. No entanto, no estudo de Maia (2001) o valor encontra-se mais próximo do actualmente verificado, ou seja, 77% (Maia, 1993; Maia, 2001; Bruno de Sousa, 2001). Este aumento corresponde ao que foi documentado por Castro Rego (2006) que refere desde que foram suspensas as acções de controlo deste parasita em 1993, que o aumento tem sido constante de ano para ano, tendo sido assinalado que em 1993, apenas 2 dos 13 gamos observados se encontravam parasitados, em 1999-2000, 7 dos 16 gamos observados encontravam-se parasitados e actualmente no presente estudo (2011-2012) 13 dos 17 gamos abatidos apresentaram este parasita.

A intensidade média obtida foi de $16,3 \pm 12,5$, valor que se encontra de acordo com o obtido por Maia (2001) que foi de 14,5 espécimes mas que é bastante mais elevado que o obtido por Bruno de Sousa (2001) que obteve uma média de 3,2 espécimes.

É importante referir que se verificou que os machos apresentaram maior percentagem de positivos que as fêmeas (83,3% contra 60%) e que a média de espécimes por indivíduo também foi bastante mais elevada nos machos (17,1 contra 1,4).

Apesar da amostra ser pequena, parece existir uma maior probabilidade de os animais mais velhos (> 4 anos) apresentarem *Fasciola hepatica* que os restantes grupos etários. De referir ainda que se observou uma maior carga parasitária nos animais mais jovens (até 1 ano inclusive) e nos animais mais velhos (> 4 anos). No período intermédio a média foi bastante mais reduzida (3 espécimes apenas contra os 21 dos dois restantes grupos etários).

Este parasita carece de referências no javali a nível europeu, sendo as únicas referências bibliográficas existentes as de Portugal, mais especificamente do local do presente estudo e da Bielorrússia (Shimalov & Shimalov, 2000; Bruno de Sousa, 2001; Bruno de Sousa *et al.*, 2004).

Ao contrário do verificado nos gamos, os javalis apresentaram uma percentagem muito superior de animais positivos a adultos de *Fasciola hepatica* em relação aos animais que

apresentavam lesões de fibrose, ou seja, 55,6% dos animais apresentavam adultos no fígado, mas apenas 11,1% (1/9) apresentava lesões de fibrose. Bruno de Sousa (2001; 2004) obteve prevalências um pouco superiores de 66,6% (2001) e de 60,8% (2004). No estudo realizado por esta autora em 2001, a percentagem de animais que apresentavam lesões também foi mais reduzida que a prevalência de parasitas adultos, no entanto, é superior à obtida no estudo actual (11,1% contra 33%). Comparando com o resultado obtido na Bielorrússia, este foi muito superior, uma vez que a prevalência obtida nesse país foi de 7,1% (Shimalov & Shimalov, 2000). A intensidade média obtida foi de $3 \pm 1,8$ espécimes, valor mais reduzido comparando com o obtido no estudo de 2001 que foi de 8,5 espécimes. Todos os animais positivos corresponderam a machos. Dentro deste género sexual a prevalência foi de 71,4%.

Segundo Gomes (2012) existem três níveis de resistência à *Fasciola hepatica*. O gamo como cervídeo apresenta uma resistência média, tal como os bovinos, devido à fibrose que desenvolvem consequências da migração do parasita. No entanto, o javali pertence ao grupo de animais que apresenta alto nível de resistência em que existe expulsão das formas jovens e encapsulamento dos adultos. Esta pode ser uma explicação para uma intensidade mais baixa obtida nos javalis em relação aos gamos bem como uma prevalência mais reduzida em relação a este cervídeo. No entanto, esta pode ser considerada bastante elevada para um animal que apresenta alto nível de resistência ao parasita. Segundo Bruno de Sousa *et al.* (2004) a partilha de um território totalmente murado com cervídeos que apresentam alta prevalência de parasitas pode ter levado a um desequilíbrio na relação entre hospedeiro-parasita, levando a uma maior percentagem de javalis que apresentam esta parasitose.

5.2.4 Coprologia dos animais caçados

Nos gamos, através da técnica de Willis foi possível observar que todos os animais apresentavam excreção de ovos do tipo estrongilídeo, o que evidencia parasitismo gastrointestinal em todos os animais, mesmo que não se tenha conseguido comprovar na observação de parasitas adultos. Na técnica de McMaster não se observou uma percentagem tão elevada, sendo pouco mais de metade dos resultados sido positivos. No entanto, conseguiu-se obter alguns valores bastante elevados em amostras individuais, apesar de praticamente metade ter sido negativo. Estes não são verdadeiros negativos, uma vez que se observa ovos na técnica de Willis. Este valor tão elevado de positivos na técnica de Willis está de acordo com o que é afirmado por Medne *et al.* (2009) quando afirma que nos gamos, os principais parasitas são os gastrointestinais e os pulmonares.

Na técnica de sedimentação, quase metade das amostras foram positivas. Dividindo por escalões etários, é possível observar que o escalão etário intermédio não apresentou

nenhum resultado positivo nesta técnica, enquanto o escalão etário mais novo apresentou 75% de amostras positivas e o último escalão etário apresentou 100% de amostras positivas. Uma vez que a técnica de McMaster Modificado começou a ser efectuada muito tardiamente, não foi possível comprovar se todos os negativos eram verdadeiros negativos, tendo-se observado que apenas um animal do escalão etário intermédio era um falso negativo na técnica de sedimentação. No entanto, e tendo em conta estes resultados, pode-se afirmar que os animais mais novos são afectados, provavelmente por ainda não terem um sistema imunitário totalmente desenvolvido. É de referir ainda que os animais abatidos com menos de 2 anos eram varetos com más hastes que são indicadores de animais mais fracos e subdesenvolvidos. Além disso, todos os animais abatidos do último escalão etário apresentavam parasitas, provavelmente por uma exposição mais prolongada no tempo e consequentemente a uma agressão parasitária constante, e por já se encontrarem em regressão, com uma diminuição das suas capacidades de defesa. Os animais do escalão intermediário são jovens adultos que se encontram no que é denominado a fase do apogeu, pelo que pode ser uma explicação para tantos resultados negativos em relação à *Fasciola hepatica*. Em bovinos de carne, Yildirim *et al.* (2007) afirma que os bovinos com mais de dois anos são afectados por uma maior duração da exposição à infecção, algo que se coaduna com os resultados do presente estudo para os animais mais velhos, mas não com os do escalão intermédio.

Em relação ao sexo, é de referir que todas as fêmeas foram negativas neste teste. Todas as fêmeas se encontram no escalão intermediário de idade, e além disso, foram todas abatidas com uma condição corporal muito boa, algo que pode explicar estes resultados.

O esfregaço fecal para observação de *Cryptosporidium* foi negativo em todas as amostras. Este resultado é o oposto do obtido por Bruno de Sousa (2001), uma vez que nesse estudo na Tapada Nacional de Mafra, foram obtidas 100% de amostras positivas. Tal como referido anteriormente, não se consegue explicar esta discrepância de resultados entre um estudo e outro. Todavia os fogos de 2003 e 2004 poderão ter desempenhado alguma acção desfavorável à sobrevivência das formas de disseminação de *Cryptosporidium* sp., que explica o seu quase desaparecimento neste trabalho.

No teste de coprocultura em copo, as larvas L3 obtidas correspondem às obtidas nas populações, ou seja larvas tipo *Oesophagostomum* e *Ostertagia*, com predomínio destas últimas em todas as amostras fecais. Tal como nas populações, também nas coprologias dos animais caçados, o nº de L3/g de fezes foi muito oscilante bem como a percentagem de desenvolvimento larvar.

Nos javalis, através da observação da técnica de Willis, verificou-se que as lâminas apresentavam grande quantidade de ovos do tipo estrongilídeo acompanhados de oocistos não esporulados. Quando se observaram as câmaras de McMaster verificou-se que os valores foram bastante elevados, sendo o mínimo 550 OPG e o máximo de 25750 OPG.

Valores desta natureza são indicativos de grande infecção parasitária. Além disso, é de referir que foram sempre efectuadas grandes contagens de oocistos, sendo a média de 538 oocistos por câmara de McMaster. Isto indica uma prevalência de 100% quer para os estrongilídeos gastrointestinais quer para os oocistos.

Medne *et al.* (2009) referem uma percentagem mais diminuta para os dois, registados na Eslováquia, sendo a prevalência de estrongilídeos gastrointestinais de apenas 62% e de oocistos de *Eimeria* spp. de 84%. Vedrine (2006), nas coprologias apenas assinalou a presença de oocistos, sendo a prevalência de animais positivos de apenas 17,9%, valor que se encontra ainda mais distante do obtido no presente estudo. Magi *et al.* (2005) efectuaram um estudo de acompanhamento ao longo de um ano de uma população de javalis, e recolhia 21 amostras mensais, mas a percentagem de positivos apenas em um dos meses ultrapassou metade pelo que a prevalência de estrongilídeos gastrointestinais foi quase sempre inferior a 50%. No caso dos oocistos de *Eimeria* spp., os autores apresentam um mês com prevalência de 100% e existindo ao longo de todo o estudo mais quatro meses em que a prevalência foi superior a 50%. No entanto, estes valores encontram-se bastante abaixo do obtido nas coprologias dos animais abatidos no presente estudo. No estudo efectuado em Portugal por Calado (2009), existe o registo de apenas duas amostras positivas para oocistos de *Eimeria* spp., o que equivale a apenas 2% da população observada. A discrepância entre estes valores e os obtidos no presente estudo, podem-se dever ao regime de semiliberdade dos animais da Tapada Nacional de Mafra e à sobrepopulação referida por Castro Rego (2006) que são factores que favorecem a disseminação de parasitas de ciclo monoxeno como é o caso dos estrongilídeos gastrointestinais e das coccídeas.

É de referir que dos três resultados mais baixos, quer em oocistos quer em ovos tipo estrongilídeo, dois são fêmeas. Além disso, estes foram os animais mais jovens a ser abatidos, pelo que se pode afirmar que os machos e os animais velhos apresentarão valores mais elevados de parasitismo gastrointestinal, situação análoga ao já observado nos gamos. Na observação de *Fasciola hepatica*, verificou-se que o teste de sedimentação é pouco sensível para a detecção de ovos em javalis, uma vez que apenas uma das amostras foi positivas. Mas quando se compara com o McMaster Modificado, verifica-se que apenas um dos negativos no teste de sedimentação era um verdadeiro negativo, uma vez que os outros cinco negativos, foram positivos no teste de McMaster modificado. Os valores de McMaster modificado variaram bastante, pelo que não é possível auferir variações correspondentes ao sexo ou idade dos animais, no entanto, é possível verificar que em alguns animais os valores são relativamente elevados (62,5% dos animais positivos). Dois dos animais pesquisados foram positivos na técnica de McMaster modificado mesmo não o tendo sido na pesquisa de parasitas adultos no fígado, pelo que parece ser aconselhável não só fazer a

pesquisa de adultos mas também análise coprológica para verificar a existência de ovos (Conceição *et al.*, 2002).

Como referido nos resultados, nas coproculturas em copo foram observados dois tipos de larva L3, nomeadamente, *Hyostrongylus* e *Oesophagostomum*. A predominância em todas as amostras observadas foi do género *Oesophagostomum*. Aquando da recolha de adultos dos estômagos dos javalis, não foi encontrado nenhum exemplar do género *Hyostrongylus*. Quanto ao número L3/g de fezes, este foi muito variável, indo de valores muito baixos a valores extremamente elevados. No entanto, a percentagem desenvolvimento larvar foi extremamente reduzido, já que o denominador da equação é o valor de OPG, que no caso dos javalis do presente estudo, foi sempre bastante elevado.

5.2.5 Ectoparasitas

No caso dos gamos, a espécie *Ixodes ricinus* encontra-se de acordo com o descrito na bibliografia na Europa e em Portugal (Sleeman, 1983; Maia, 1993; Szczurek & Kadulski, 2004). Em Portugal, esta espécie também se encontra documentada no veado (Sousa *et al.*, 2009). Uma vez que se trata de um parasita eurixeno é possível a transmissibilidade entre cervídeos que tenham contacto estreito, como é o caso dos veados e dos gamos na TNM (Urquhart *et al.*, 1998). Apesar de ser uma espécie diferente, nos EUA também existe referência a parasitismo dos gamos por ixodídeos do género *Ixodes* (Richardson & Demarais, 1992).

A prevalência deste parasita é mais reduzida que a referida por Maia (1993) uma vez que esta registou 100% dos animais positivos a este parasita, enquanto no actual estudo foi de 88,24%. No entanto, esta prevalência continua a ser bastante mais elevada do que a registada na Polónia (Szczurek & Kadulski, 2004), onde este parasita afecta apenas 29% da população de gamos, embora tenhamos de ter em conta o seu clima mais desfavorável para este ixodídeo. No estudo efectuado por Sousa *et al.* (2009), apesar de ser referente a veados, a prevalência foi bastante mais reduzida que a obtida no presente estudo, tendo sido de apenas 41,2%. Também não se verificou uma grande diferença na prevalência entre machos e fêmeas, conclusão que não está de acordo com o mesmo estudo que aponta o dobro da prevalência nos machos em relação às fêmeas. No presente estudo verificou-se que o escalão etário que apresenta uma maior grau de infestação foi o das crias até um ano uma vez que este foi o único escalão etário em que se verificou infestação de grau 3 (50%) e uma prevalência de 100% de animais positivos, algo que não se coaduna com o que foi observado na Polónia, uma vez que foi registado nesse estudo que as crias foram as menos afectadas por esta parasitose (Szczurek & Kadulski, 2004). No entanto, tendo em conta todos os animais estudados é importante afirmar que a percentagem de infestações de grau 2 (20%) e 3 (13,33%) são mínimas comparadas com infestações de grau 1 (66,67%). Os animais dos dois últimos escalões etários apresentaram na sua maioria infestações de grau

1 e não registaram uma única infestação de grau 3, o que leva a crer que os animais mais novos são afectados de forma acentuada acabando por criar imunidade que leva à diminuição desta parasitose com a idade.

As espécies verificadas nos javalis estão de acordo com as descritas por Ruiz-Fons *et al.* (2006), havendo no entanto uma diferença considerável no número de espécies encontradas, uma vez que este estudo obteve apenas duas espécies diferentes, nomeadamente, *Hyalomma lusitanicum* e *Rhipicephalus sanguineus* contra as oito descritas no estudo dos autores referidos. Isto pode-se dever à abrangência geográfica do estudo efectuado em Espanha, ao contrário do presente estudo que apresenta uma localização muito específica. No entanto, ambos os parasitas foram encontrados no estudo efectuado em Espanha, nas amostras recolhidas na zona centro (*R. sanguineus*) e na zona centro-sul e sul (*Hy. lusitanicum*), ambos com clima mediterrânico. Este também é o clima existente na TNM, o que nos leva a crer que estas espécies sejam verificadas em zonas mais a sul da Península Ibérica.

Podemos ainda verificar uma considerável diferença nas prevalências assinaladas, mesmo existindo uma grande diferença na amostra assinalada, uma vez que no presente estudo *Hy. lusitanicum* apresenta uma prevalência de 77,8% e *R. sanguineus* de 11,1% contra os descritos no estudo em Espanha, respectivamente, 1% e 2,5%.

Sousa *et al.* (2009) também descreveu estas duas espécies em veados da zona de Castelo Branco e Idanha-a-Nova, com prevalências de 88,3% para *Hy. lusitanicum* e 5,9% para *R. sanguineus*. Existindo um contacto estreito entre as populações de javalis e cervídeos na TNM, pode ocorrer transmissibilidade destes parasitas entre as diferentes espécies.

Verifica-se ainda pelos resultados que os animais adultos não apresentam infestações ligeiras (classificação 1). As infestações encontram-se distribuídas entre a classificação 2 e 3, algo que poderá ser prejudicial para a saúde destes animais e dos humanos, uma vez que as carraças são importantes vectores de transmissão e reservatórios de doenças, nomeadamente de zoonoses (Parola & Raoult, 2001).

6. Conclusão

Com este estudo, foi possível observar que as populações silvestres não se comportam como as populações domésticas, havendo um equilíbrio com o parasitismo. No entanto, é de realçar que o estado sanitário destes animais tem-se vindo a degradar com o tempo, principalmente devido à sua infecção por *Fasciola hepatica*.

Em relação às técnicas utilizadas, a combinação das técnicas de flutuação de Willis com o McMaster permitiram ter uma melhor perspectiva da estabilidade da excreção de strongilídeos gastrointestinais no caso dos cervídeos (variação entre 0 – 100 OPG nas populações e uma média de 76 ± 06 OPG nos gamos caçados), e da preocupante carga parasitária que os javalis demonstram (média nas populações entre 1487,5 e 4242,9 OPG e média dos animais caçados de 6738 ± 7590 OPG). De referir no entanto que os hábitos desta espécie favorecem bastante o parasitismo, principalmente pelo grande consumo de HI e sobrepopulação.

Verificou-se que se tivesse sido utilizada unicamente a técnica de sedimentação, que o estudo estaria limitado na real situação em relação a *Fasciola hepatica*, uma vez que não seria possível quantificar a sua excreção ao longo do tempo do estudo. Além disso, a combinação das duas técnicas permitiu aumentar a sensibilidade.

Em relação a *Cryptosporidium*, tanto nas populações (2,5%) como nos animais caçados (0%), os valores são drasticamente mais reduzidos que o estudo anterior efectuado na TNM, algo que levanta questões do porquê deste decréscimo tão acentuado, mas que reputamos de positivo em termos de Saúde Animal e Saúde Pública.

Em relação ao método de Baerman, foi possível verificar a existência de três espécies de nemátodes pulmonares através das suas L1 nos cervídeos, sendo que uma delas ainda não se encontra reportada nos gamos na Europa, que é o caso de *Muellerius* sp., mas que na TNM parece ser o parasita pulmonar mais prevalente e dominante (100% das populações de cervídeos e 26,7% do Baerman de pulmão de gamos abatidos em acto de caça). Em relação aos javalis, o refinamento da técnica de Baerman usando o sistema de crivos permitiu melhorar os resultados e confirmar novamente a existência de *Metastrongylus* spp. nestes animais (100% das populações e 55,6% dos Baerman realizados nos pulmões de javalis abatidos em acto de caça).

Em relação aos animais caçados, o estudo acabou por confirmar a presença de parasitas já reportados em estudos anteriores. De assinalar a primeira identificação efectuada na TNM de *Spiculopteragia mathevossiani* e *Oesophagostomum radiatum* em gamos. De referir ainda o facto de ter sido assinalado *Metastrongylus pudendotectus* nos javalis, algo que não acontecia desde 1989 na TNM.

Em relação a *Fasciola hepatica*, verificou-se que os gamos apresentam uma maior percentagem de positivos do que os javalis (76,47% nos gamos e 55,56% nos javalis),

possivelmente por serem menos resistentes a este parasita que os javalis. De assinalar ainda que os gamos apresentam muito mais espécimes que os javalis (média de $16,3 \pm 12,5$ espécimes nos gamos e $3 \pm 1,8$ espécimes nos javalis). Além disso, os gamos apresentam uma elevada percentagem de lesões fibróticas pela presença do parasita (88,24%), algo que o javali não apresenta quase nunca, verificável pela sua extremamente reduzida percentagem de animais com lesões hepáticas (11,11%). No caso dos javalis, a técnica de sedimentação em conjunto com o McMaster modificado mostrou-se bastante proveitosa, uma vez que se passou de apenas um positivo com a sedimentação, para apenas um negativo usando as duas técnicas conjugadas.

Os ectoparasitas encontrados nos animais estão de acordo com o verificado em estudos anteriores efectuados no mesmo local. Foi interessante verificar que no caso dos gamos, o grau de infecção vai diminuindo com a idade, sendo um indicador de possível imunidade adquirida contra estes parasitas com a idade (50% animais com grau de infecção 3 nos animais com ≤ 1 ano e 0% de animais com grau de infecção 3 nos animais com mais de 4 anos). O oposto foi verificado nos javalis (0% apresentou infecção de grau 1 e 55,56% apresentou infecção de grau 3).

7. Perspectivas Futuras

Durante a realização deste estudo apercebemo-nos da quantidade mínima de estudos que existem publicados sobre doenças de animais silvestres. A TNM pela sua localização e características excepcionais, tornou-se um “laboratório” importante de estudos nesta área, ainda que acabe por não representar todo o território nacional.

Num momento em que o país vai ficando cada vez mais desertificado no seu interior, as espécies silvestres regressam para os locais que eram antes os seus habitats. Perante esta perspectiva, e sendo da maior importância o controlo sanitário destes animais, é importante tentar-se conhecer cada vez mais a sua biologia e estado sanitário. Além disso, numa altura em que se fazem esforços para erradicar tantas doenças infecciosas importantes nos animais domésticos, a presença e aproximação dos animais silvestres de territórios onde antes não existiam, e o possível contacto com as populações de animais domésticos e humanas, reforçam esta ideia de que é necessário estudar estas populações de ungulados silvestres e perceber a contribuição que estas têm para a manutenção de tantas doenças infecciosas e parasitárias.

Na TNM, este estudo alerta para a necessidade de reiniciar rapidamente um controlo da *Fasciola hepatica*, tentando combater o seu HI, e se necessário tentar desparasitação do HD, uma vez que pelos estudos anteriores e por este estudo, verifica-se um crescendo deste parasita que terá implicações futuras no estado sanitário destes animais a médio-longo prazo.

Além disso, verificámos a necessidade de referir mais dois pontos. Antes demais, a necessidade de criar uma maior amostragem de animais (especialmente caçados) e mais prolongada no tempo para que se consigam tirar conclusões com maior grau de probabilidade de corresponderem à realidade.

E por fim, devido às elevadas taxas de ixodídeos encontradas, pensamos ser de grande importância efectuar um estudo parasitológico do sangue, uma vez que a possibilidade de existência de parasitas sanguíneos existe e além disso, não se conhecem os danos que estes poderão causar nestas populações.

É nossa convicção que onde pouco ainda se sabe, muito haverá para conhecer.

8. Bibliografia

- Afonso-Roque, M.M. (1989) Fauna Helmintológica de vertebrados terrestres da ilha de S. Miguel (Açores) Dissertação de Doutoramento em Biologia, especialidade Parasitologia. Ponta Delgada: Universidade dos Açores.
- Agnarsson, I., May-Collado, L.J. (2008). The phylogeny of Cetartiodactyla: The importance of dense taxon sampling, missing data, and the remarkable promise of cytochrome b to provide reliable species-level phylogenies. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48, 964–985.
- Alasaad, S., Huang, C.Q., Li, Q.Y., Granados, J.E., García-Romero, C., Pérez, J.M., Zhu, X.Q. (2007) Characterization of *Fasciola* samples from different host species and geographical localities in Spain by sequences of internal transcribed spacers of rDNA. *Parasitology Research*, 101 (5), 1245-1250.
- Alasaad, S., Li, Q.Y., Lin, R.Q., Martín-Atance, P., Granados, J.E., Díez-Baños, P., Pérez, J.M., Zhu, X.Q. (2008). Genetic variability among *Fasciola hepatica* samples from different host species and geographical localities in Spain revealed by the novel SRAP marker. *Parasitology Research*, 103 (1), 181-186.
- Antolová, D., Reiterová, K., Dubinský, P. (2006). The role of wild boars (*Sus scrofa*) in circulation of trichinellosis, toxocarosis and ascariasis in the Slovak Republic. *Helminthologia*, 43 (2), 92 – 97.
- Balicka-Ramisz, A., Pilarczyk, B., Ramisz, A., Cisek, A. (2005). Occurrence of gastrointestinal and pulmonary nematodes of fallow deer (*Dama dama* L.) in North-West Poland. *Acta Parasitologica*, 50(1), 94–96.
- Barata, M.C.S.; Afonso-Roque, M.M. (1989). As espécies do género *Metastrongylus* Molin, 1861 (Nematoda, Trichostrongyloidea) parasitas do javali (*Sus scrofa castilianus* Thomas, 1912) em Portugal. *Garcia de Orta série: Zoologia*, 16 (1-2), 45-50.
- Bowman, D.D. (2009). *Georgi's Parasitology for veterinarians*. (9ª edição). St Louis, Missouri: Saunders Elsevier.
- Braza, F. (2011). Enciclopedia virtual de los vertebrados españoles: Gamo – *Dama dama*. (Acedido em Agosto de 2012). disponível em <http://www.vertebradosibericos.org/mamiferos/pdf/damdam.pdf>
- Brown, R.W., Pope, M.J. (2009). *Animals: Tracks, Trails & Signs*. Londres: Octopus Publishing Group Ltd.
- Bruno de Sousa, C., Madeira de Carvalho, L.M., Fazendeiro, I., Castro Rego, F., Afonso-Roque, M.M. (2004). Contribution for the knowledge of Wild Boar (*Sus scrofa* L.) helminthic fauna in Tapada Nacional de Mafra, an enclosed hunting area. *Revista Ibérica de Parasitología*, 64 (1-4), 3-7.

- Bruno de Sousa, C.A.F., (2001). Contribuição para o Conhecimento do Risco Parasitário das Populações de Gamo (*Dama dama* L.) e Javali (*Sus scrofa* L.) da Tapada Nacional de Mafra. Relatório do Trabalho de Fim de Curso de Engenharia Agronómica. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia – Universidade Técnica de Lisboa.
- Bugalho, M.N., Milne, J.A. (2003). The composition of the diet of red deer (*Cervus elaphus*) in a Mediterranean environment: a case of summer nutritional constraint?. *Forest Ecology and Management*, 181, 23–29.
- Bugalho, M.N., Milne, J.A., Racey, P.A. (2001). The foraging ecology of red deer (*Cervus elaphus*) in a Mediterranean environment: is a larger body size advantageous?. *Journal of Zoology*, 255, 285-289.
- Bush, A.O.; Lafferty, K.D.; Lotz, J.M.; Shostak, A.W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al revisited. *Journal of Parasitology*, 83 (4), 575-583
- Cahill, S., Llimona, F., Gracia, J. (2003). Spacing and nocturnal activity of wild boar *Sus scrofa* in a Mediterranean metropolitan park. *Wildlife Biology*, 9 (Suplemento 1), 3-13.
- Calado, M.R.M. (2009). *Biologia e parasitoses do javali (Sus Scrofa) e repovoamento de coelho-bravo (Oryctolagus cuniculus)*. Relatório final de Estágio de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Porto: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.
- Carranza, J. (2011). Enciclopedia virtual de los vertebrados españoles: Ciervo – *Cervus elaphus*. (Acedido em Agosto de 2012). disponível em <http://www.vertebradosibericos.org/mamiferos/pdf/cerela.pdf>
- Carriço Neves, M.G. (2013) Contribuição para a caracterização do parasitismo em suínos de raça ibérica e javalis silvestres das comunidades autónomas da *Extremadura* e *Castilla y León* (Espanha) e dos factores de risco associados. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.
- Carrilho, P.N.S.M. (2003). Dinâmica e distribuição espacial da população de gamo (*Dama dama* L.) da Tapada Nacional de Mafra, Contributo para o ordenamento cinegético. Relatório de projecto do curso de Engenharia Agro-Florestal, ramo Desenvolvimento Rural. Beja: Escola Superior Agrária - Instituto Politécnico de Beja.
- Casemore, C.D., Armstrong, M., Sands R.L., (1985). Laboratory Diagnosis of Cryptosporidiosis. *Journal of Clinical Patology*, 38, 1337-1341.
- Castro Rego, F. (2006) *Tapada de Mafra: uma história natural*. Lisboa: Direcção Geral dos Recursos Florestais.

- Chapman, D., Chapman, N. (1975) Fallow Deer: Their History, Distribution, and Biology. Terence Dalton Limited, 271 pp. in Maia, M.J. (1993). *Contribuição para o estudo de algumas espécies de cervídeos (Cervus elaphus, Cervus canadenses e Dama dama) no Jardim Zoológico de Lisboa e Tapada Nacional de Mafra*. Trabalho de fim de curso de Produção Animal. Santarém: Instituto Politécnico de Santarém, Escola Superior Agrária de Santarém.
- Chassaing, J.P. (2001). *Contribution a l'étude de la trichinose du sanglier (Sus scrofa L., 1758). Resultats d'une enquete epidemiologique dans le camp militaire de Canjuers (Var)*, Tese de Licenciatura em Medicina Veterinária. Toulouse: École Nationale Veterinaire de Toulouse, Université Paul-Sebastier de Toulouse.
- Cisek A., Balicka-Ramisz A., Ramisz A., Pilarczyk B. (2003a). Occurrence of gastro-intestinal nematodes in cervids (Cervidae) of north-western Poland. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Animal Husbandry*, 6 (2), #09.
- Cisek A., Balicka-Ramisz A., Ramisz A., Pilarczyk B. (2003b). Course and Treatment of Lungworm Infection Game Animals (Red Deer, Roe Deer, and Fallow Deer) in North-West Poland. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Animal Husbandry*, 6 (1), #01.
- Conceição, M.A., Durão R.M., Costa I.H., Correia da Costa. J.M. (2002). Evaluation of a simple sedimentation method (modified McMaster) for diagnosis of bovine fascioliosis. *Veterinary Parasitology*, 105 (2002), 337–343.
- Davidson, W.R., Crum, J.M., Blue, J.L., Sharp, D.W., Phillips, J.H. (1985). Parasites, diseases, and health status of sympatric populations of fallow deer and white-tailed deer in Kentucky. *Journal of Wildlife Diseases*, 21(2), 153-159.
- Deem, S.L., Karesh, W.B., Weisman, W. (2001). Putting Theory into Practice: Wildlife Health in Conservation. *Conservation Biology*, 15(5), 1224-1233.
- De-la-Muela, N., Hernández-de-Luján, S., Ferre, I. (2001). Helminths of Wild Boar in Spain. *Journal of Wildlife Diseases*, 37(4), 840-843.
- Díez-Baños, N., Delgado, A.M., Argüello, M.R.H. (2009) Estudio comparativo de parásitos hepáticos em ruminantes silvestres abatidos en tres reservas regionales de caza del norte de la provincia de Leon (España). Lisboa, Portugal, 15 a 18 de Setembro de 2009, Poster CP.201, *Acta Parasitológica Portuguesa*, 2009, 16 (1/2), 138-139.
- Divina, B.P., Wilhelmsson, E., Mörner, T., Mattsson, J.G., Höglund, J. (2002). Molecular identification and prevalence of *Dictyocaulus* spp. (Trichostrongyloidea: Dictyocaulidae) in swedish semi-domestic and free-living cervids. *Journal of Wildlife Diseases*, 38(4), 769-775.

- Dolan, J.M., (1988). A deer of many lands- A guide to the subspecies of the red deer *Cervus elaphus*, L. *Zoonoz*, 62(10), 4-34 in Garde, J.J., Fernández-Santos, M. R., Soler, A. J., Estes, M. C., Maroto-Morales, A., García-Álvarez, O., García-Díaz, A. J., Ortiz, J. A., Ramón, M. (2010). Ungulados silvestres de España, biología y tecnologías reproductivas para su conservación y aprovechamiento cinegético: Ciervo ibérico (*Cervus elaphus hispanicus* Hilzheimer, 1909). *Monografías INIA: serie medioambiental*, 2, 158-178.
- Domínguez-Alpízar, J.L.; Sáenz, I.E.; Alcaide, M.; Reina, D. (2005). Parasitosis gástricas en el cerdo Ibérico: Hiostrongilosis, Ascaropsosis y Fisocefalosis. *Porci*, 86, 43-50.
- Dunn, A.M. (1978) *Veterinary Helminthology*. (2ª edição) Londres: William Heinemann Medical Books Ltd.
- Estação Zootécnica Nacional (1989) *Manual Prático de Técnicas Laboratoriais de Parasitologia*. Santarém: EZN.
- Fernandez-de-Mera, I.G., Gortazar, C., Vicente, J., Höfle, U., Fierro, Y. (2003). Wild boar helminths: risks in animal translocations. *Veterinary Parasitology*, 115, 335-341.
- Fernández-Llario, P. (2005). The sexual function of wallowing in male wild boar (*Sus scrofa*). *Journal of Ethology*, 23, 9-14.
- Fernández-Llario, P. (2008). Enciclopedia virtual de los vertebrados españoles: Jabalí – *Sus scrofa* (Acedido em Agosto de 2012). disponível em <http://www.vertebradosibericos.org/mamiferos/pdf/susscr.pdf>
- Fernández-Llario, P., Carranza, J., Hidalgo de Trucios, S. J. (1996). Social organization of the wild boar (*Sus scrofa*) in Doñana National Park. *Miscellània Zoològica*, 19(2), 9-18.
- Foata, J., Culioli, J.L., Marchand, B. (2005). Helminth fauna of wild boar in Corsica. *Acta Parasitologica*, 50(2), 168–170.
- Foreyt, W.J. (2001). *Veterinary Parasitology: reference manual*. (5ª edição). Iowa: University Press/Blackwell.
- García-Gonzalez, R., Cuartas, P. (1992). Food habits of sympatric ungulates: food habits of *Capra pyrenaica*, *Cervus elaphus* and *Dama dama* in the Cazorla Sierra (Spain). *Mammalia*, 56 (2), 195-202.
- García-Romero, C., Valcárcel, F., Corchero, J.M., Olmeda, A.S., Pérez-Jiménez, J.M. (2000). Contribución al Estudio de la Parasitosis del Ciervo (*Cervus elaphus*) en las Provincias de Toledo y Ciudad Real (Castilla-la Mancha, España). *Ecología*, 14, 235-249.

- Garde, J.J., Fernández-Santos, M. R., Soler, A. J., Esteso, M. C., Maroto-Morales, A., García-Álvarez, O., García-Díaz, A. J., Ortiz, J. A., Ramón, M. (2010). Ungulados silvestres de España, biología y tecnologías reproductivas para su conservación y aprovechamiento cinegético: Ciervo ibérico (*Cervus elaphus hispanicus* Hilzheimer, 1909). *Monografías INIA: serie medioambiental*, 2, 158-178.
- Gião Gomes, A.I.J. (2009) *Contribuição para a caracterização do parasitismo gastrintestinal e pulmonar em suínos de raça alentejana no distrito de Évora*. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.
- Gibbons, L.M., Jacobs, D.E., Fox, M.T., Hansen, J. (2011). The RVC/FAO Guide to Veterinary Diagnostic Parasitology. (Acedido em Novembro de 2011). Disponível em <http://www.rvc.ac.uk/review/Parasitology/Index/Index.htm>
- Gomes, C.A.V.C. (2012). *Fasciolose em bovinos de engorda*. Dissertação de tese de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa.
- Hoberg, E.P., Kocan, A.A., Rickard, L.G. (2001). Parasitic Diseases of Wild Mammals: gastrointestinal strongyles in wild ruminants. 2ª edição. EUA: Iowa State University Press.
- Humbert, J.F., Henry, C. (1989). Studies on the prevalence and the transmission of lung and stomach nematodes of the wild boar (*Sus scrofa*) in France. *Journal of Wildlife Diseases*, 25(3), 335-341.
- Hutchins, M., Foose, T., Seal, U.S. (1991). The Role of Veterinary Medicine in Endangered Species Conservation. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 22.(3), 277-281.
- Iglesias, A.M.P. (2012). *Prevalencia y factores de riesgo asociados a la Infección por endoparásitos en rumiantes domésticos Y silvestres de la provincia de Lugo*. Tese de Doutoramento. Lugo: Universidade de Santiago de Compostela.
- Järvis, T., Kapel, Ch., Moks, E., Talvik, H., Mägi, E. (2007). Helminths of wild boar in the isolated population close to the northern border of its habitat area. *Veterinary Parasitology*, 150, 366–369.
- Kusak, J., Špičić, S., Slijepčević, V., Bosnić, S., Rajcović Janje, R., Duvnjak, S., Sindičić, M., Majnarić, D., Cvetnić, Ž., Huber, D. (2012). Health status of red deer and roe deer in Gorski kotar, Croatia. *Veterinarski Arhiv*, 82 (1), 59-73.
- Madeira de Carvalho, L.M. (2001) – *Epidemiologia e controlo da estrogilidose em diferentes sistemas de produção equina em Portugal*. Tese de Doutoramento. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, xxii + 445 pp.
- Magi, M., Bertani, M., Dell'Omodarme, M., Prati, M.C., Poglayen, G. (2005). Seasonal egg output of gastro-intestinal parasites in wild ungulates in a Mediterranean area (central Italy). *Hystrix the Italian Journal of Mammalogy*, 16 (2), 169-177.

- Maia, M.J. (1993). *Contribuição para o estudo de algumas espécies de cervídeos (Cervus elaphus, Cervus canadenses e Dama dama) no Jardim Zoológico de Lisboa e Tapada Nacional de Mafra*. Trabalho de fim de curso de Produção Animal. Santarém: Instituto Politécnico de Santarém, Escola Superior Agrária de Santarém.
- Maia, M.J. (2001). Helmintofauna do veado (*Cervus elaphus* L.) e do gamo (*Dama dama* L.) na Tapada Nacional de Mafra. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 96 (536), 81-84.
- Maia, M.J., Viçosa, M.J.V., Simões, A.J.L., Caeiro, V. (1994). Endoparasitas da fauna silvestre raramente ou não assinalados em Portugal. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 2 (1/2), 23-25.
- Malo, A.F., Roldan, E.R.S., Garde, J., Soler, A.J., Gomendio, M. (2005). Antlers honestly advertise sperm production and quality. *Proceedings of the Royal Society of Biological Sciences*, 272, 149-157.
- Martínez Delgado, A., Díez Baños, M. N., Hidalgo Argüello, M.R. (2006). Datos preliminares sobre la parasitofauna del ciervo (*Cervus elaphus*) de la reserva regional de caza de Riaño (NE de León, España). *Actas del XIV Congreso Internacional de la Federación Mediterránea de Sanidad y Producción de Rumiantes*, 443-449.
- Martínez Martínez, T. (2002). Comparison and overlap of sympatric wild ungulate diet in Cazorla, Segura and Las Villas natural park. *Pirineos*, 157, 103 – 115.
- McElligott A.G., Altwegg R., Hayden T.J. (2002). Age-specific survival and reproductive probabilities: evidence for senescence in male fallow deer (*Dama dama*). *Proceedings of the Royal Society*, 269 (1496), 1129-1137.
- Medne, R., Krūklīte, A., Keidāns, P., Liepiņš, E., KeidāneK., Eihvalde, E., Ikauniece, D. (2009). Parasitic Infestation of Animals in Deer Gardens in Latvia. *Acta Biol. Univ. Daugavp.*, 9 (1), 109-114.
- Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas (2003). Comunicado de Imprensa. Acedido em Novembro de 2012, disponível em <http://www.agroportal.pt/x/agronoticias/2003/09/16.htm>
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (1986). *Manual of veterinary parasitological laboratory techniques: Reference Book 418*, Londres: Her Majesty's Stationery Office
- Morse, B.W., Miller, D.L., Miller, K.V., Baldwin, C.A. (2009). Population health of fallow deer (*Dama dama*) on little St. Simons island, Georgia, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(2), 411–421.
- Neto, F. G. (1996). Contribuição para o estudo de nemátodes pulmonares em pequenos ruminantes na região do Barroso. Provas de Aptidão Pedagógica e Capacidade Científica, Relatório de uma aula Teórico-Prática, Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.

- Nosal, P., Kowal, J., Nowosad, B. (2010). Structure of Metastrongylidae in wild boars from southern Poland. *Helminthologia*, 47 (4), 212-218.
- Panayotova-Pencheva, M.S. (2006). New records of protostrongylid lungworms from wild ruminants in Bulgaria. *Veterinarni Medicina*, 51 (10), 477-484.
- Parola, P., Raoult, D. (2001). Ticks and Tickborne Bacterial Diseases in Humans: An Emerging Infectious Threat. *Clinical Infectious Diseases*, 32, 897-928.
- Paziewska, A., Bednarska, M., Niewęglowski, H., Karbowiak, G., Bajer, A. (2007). Distribution of *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. in selected species of protected and game mammals from north-eastern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 14, 265-270.
- Rajković-Janje, R., Bosnić, S., Rimac, D., Dragičević, P., Vinković, B. (2002). Prevalence of helminths in wild boar from hunting grounds in eastern Croatia. *Zeitschrift für Jagdwissenschaft*, 48 (4), 261-270.
- Ramajo Martín, V.; Pérez Sánchez, R.; Ramajo Hernández, A.; Oleaga, A. (2007). Preliminary data about the parasitism caused by Protozoa, Helminths and Ticks in cervids and wild bovids from Salamanca (western Spain). *Revista Ibérica de Parasitología*, 67 (1-4), 69-77.
- Rego, F.C. (2006). *Tapada de Mafra uma história natural*. Lisboa: DGRF – Direcção Geral dos Recursos Florestais.
- Regulamento (CE) nº 2075/2005 da Comissão de 5 de Dezembro de 2005. *Jornal Oficial da União Europeia* L338/60. Comissão das Comunidades Europeias.
- Richardson, M.L., Demarais, S. (1992). Parasites and Condition of Coexisting Populations of White-tailed and Exotic Deer in South-central Texas. *Journal of Wildlife Diseases*, 28(3), 485-489.
- Riglet, P.H. (1977). *Contribution a l'étude de l'âge du Cerf elaphe*. Tese de Licenciatura em Medicina Veterinária. Paris: École Nationale Vétérinaire D'Alfort in Maia, M.J. (1993). *Contribuição para o estudo de algumas espécies de cervídeos (Cervus elaphus, Cervus canadenses e Dama dama) no Jardim Zoológico de Lisboa e Tapada Nacional de Mafra*. Trabalho de fim de curso de Produção Animal. Santarém: Instituto Politécnico de Santarém, Escola Superior Agrária de Santarém.
- Ruiz-Fons, F., Fernández-de-Mera, I.G., Acevedo, P., Höfle, U., Vicente, J., de la Fuente, J., Gortazár, C. (2006). Ixodid ticks parasitizing Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) and European wild boar (*Sus scrofa*) from Spain: Geographical and temporal distribution. *Veterinary Parasitology*, 140, 133-142.
- San Miguel, J., Álvarez, G., Luzón, M. (2001). Procesos parasitarios detectados en ciervos (*Cervus elaphus*) abatidos en la provincia de Toledo. *Galemys*, 13, 11-24.

- Santín-Durán, M., Alunda, J.M., Hoberg E.P., de la Fuente, C. (2004). Abomasal parasites in wild sympatric cervids, red deer, *Cervus elaphus* And fallow deer, *Dama dama*, from three localities across central and western Spain: relationship to host density and park management. *Journal Parasitology*, 90 (6), 1378–1386.
- Santín-Durán, M., Alunda, J.M., Hoberg, E.P., de la Fuente, C. (2008). Age Distribution and Seasonal Dynamics of Abomasal Helminths in Wild Red Deer from Central Spain. *Journal of Parasitology*, 94(5), 1031-1037.
- Say, L., Naulty, F., Hayden, T.J. (2003). Genetic and behavioural estimates of reproductive skew in male fallow deer. *Molecular Ecology*, 12 (10), 2793-2800.
- Shimalov, V.V., Shimalov, V.T. (2000). Findings of *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 in wild animals in Belorussian Polesie. *Parasitology Research*, 86, 527.
- Sleeman, D.P. (1983). Parasites of deer in Ireland. *Journal of Life Sciences of the Royal Dublin Society*, 4, 203-210.
- Sousa, S., Jonquères, J., Silva, T., Madeira de Carvalho, L.M. (2009). Parasitas de *Cervus elaphus* observados em Portugal. XI Congresso Ibérico de Parasitologia. IHMT/UNL, Lisboa, Portugal, 15 a 18 de Setembro de 2009, Poster CP.32, *Acta Parasitológica Portuguesa*, 16 (1/2), 216-217.
- Szczurek, B., Kadulski, S. (2004). Ectoparasites on fallow deer, *Dama dama* (L.) in Pomerania, Poland. *Acta Parasitologica*, 49 (1), 80-86.
- The British Deer Society (SD). Fallow deer (*Dama dama*). Acedido em Dez., 2012, disponível em <http://www.bds.org.uk/fallow.html>
- Thompson, R.C.A., Lymbery, A.J., Smith A. (2010). Parasites, emerging disease and wildlife conservation. *International Journal for Parasitology*, 40 (10), 1163–1170.
- Umur, S. Gürler A.T., Beyhan, Y.E., Bölükbaş, C.S., Açıci, M. (2011). Two New Nematode Species for Turkey Helminth Fauna in Roe Deer (*Capreolus capreolus*), *Spiculoptera spiculoptera* (Guschanskaia, 1931) and Minor Morph S. (Rinadia) *mathevossiani* (Ruchliadev, 1948). *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17 (4), 649-654.
- Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M., Jennings, F.W. (1998). *Veterinary Parasitology*. (2ª edição). Local de edição: Blackwell Publishing.
- Valcárcel, F., Corchero, J., Olmeda, A.S., Rojo Vázquez, F.A., García Romero, C. (2002). Gastrointestinal nematode infections of *Cervus elaphus* in Castilla-La Mancha (Central Spain). *Revista Ibérica de Parasitología*, 62 (3-4), 108-113.
- Varga, G., Sugár, L., Kőrös, A. (2005). Lungworm occurrence in wild boar stocks subject to different management actions. *Wildlife Biology in Practice*, 1(2), 152-155.

- Vedrine, B. (2006). *Incidence du parasitisme pulmonaire et digestif sur les retards de croissance du sanglier sauvage (Sus scrofa)*, Tese de Licenciatura em Medicina Veterinária. Nantes: École Nationale Veterinaire de Nantes.
- Vengušt, A., Klinkon, M., Bidoveca, A., Venguštc, A. (2003). *Fasciola hepatica*: effects on blood constituents and liver minerals in fallow deer (*Dama dama*). *Veterinary Parasitology*, 112 (1-2), 51-61.
- Vila-Viçosa, M.J.M.; Pais Caeiro, V.M.; (2007). Manual de Identificação microscópica dos parasitas: Bayer HealthCare Saúde Animal.
- Virgós, E. (2002). Factors affecting wild boar (*Sus scrofa*) occurrence in highly fragmented Mediterranean landscapes. *Canadian Journal of Zoology*, 80 (3), 430-435.
- Walker, A.R., Bouattour, A., Camicas, J.L., Estrada-Peña, A., Horak, I.G., Latif, A.A., Pegram, R.G., Preston, P.M. (2003) *Ticks of Domestic Animals in Africa, A Guide to Identification of Species* (1ª edição) Reino Unido: Bioscience Reports.
- Yildirim, A.; Ica, A.; Duzlu, O.; Inci, A. (2007). Prevalence and risk factors associated with *Fasciola hepatica* in cattle from Kayseri province, Turkey. *Reveu Médecine Vétérinaire*, 158, 613-617.